

## METHOD FOR THE PRODUCTION OF MULTIPLY-UNSATURATED FATTY ACIDS IN TRANSGENIC ORGANISMS

**Publication number:** WO2005012316

**Publication date:** 2005-02-10

**Inventor:** ZANK THORSTEN (DE); BAUER JOERG (DE); CIRPUS PETRA (DE); ABBADI AMINE (DE); HEINZ ERNST (DE); QIU XIAO (CA); VRINTEN PATRICIA (CA); SPERLING PETRA (DE); DOMERGUE FREDERIC (DE); MEYER ASTRID (DE); KIRSCH JELENA (DE)

**Applicant:** BASF PLANT SCIENCE GMBH (DE); ZANK THORSTEN (DE); BAUER JOERG (DE); CIRPUS PETRA (DE); ABBADI AMINE (DE); HEINZ ERNST (DE); QIU XIAO (CA); VRINTEN PATRICIA (CA); SPERLING PETRA (DE); DOMERGUE FREDERIC (DE); MEYER ASTRID (DE); KIRSCH JELENA (DE)

**Classification:**






- **International:** C11B1/02; C12N9/02; C12N9/10; C11B1/00; C12N9/02; C12N9/10; (IPC1-7): C07H

- **european:**






**Application number:** WO2004EP07957 20040716

**Priority number(s):** DE20031035992 20030801; DE20031044557 20030924; DE20031047869 20031010; DE20031059593 20031218; DE200410009457 20040227; DE200410012370 20040313; DE200410024014 20040514

**Also published as:**

 WO2005012316 (A3)  
 EP1654344 (A3)  
 EP1654344 (A2)  
 EP1654344 (A0)  
 CA2533613 (A1)

**Cited documents:**

 XP002266491  
 XP002200201  
 XP009046591  
 XP002228745  
 XP002174836

**Report a data error here**

### Abstract of WO2005012316

The invention relates to a method for the production of multiply-unsaturated fatty acids in an organism, into which nucleic acids have been introduced, which code for polypeptides with Delta-5 elongase activity. Said nucleic acid sequences, optionally with further nucleic acid sequences, coding for polypeptides for the biosynthesis of fatty acids and lipid metabolism, are advantageously expressed in the organism. Nucleic acid sequences coding for a Delta-6 desaturase, a Delta-5 desaturase, Delta-4 desaturase and/or Delta-6 elongase activity are particularly advantageous and, advantageously, said saturases and elongases are derived from *Thalassiosira*, *Euglena* or *Ostreococcus*. The invention further relates to a method for the production of oils and/or triacylglycerides with an increased content of long-chain, multiply-unsaturated fatty acids. A particular embodiment of the invention is a method for the production of unsaturated omega-3 fatty acids and a method for the production of triglycerides with an increased content of unsaturated fatty acids, in particular, of Delta-3 fatty acids with more than three double bonds. Also disclosed is the production of a transgenic organism, preferably a transgenic plant, or a transgenic microorganism with increased content of omega-3 fatty acids, oils or lipids with omega-3 double bonds as a result of the expression of the elongases and desaturases employed in the above method, preferably in combination with omega-3 desaturases, for example a omega-3 desaturase from fungi of the family Pythiaceae such as the genus *Phytophthora*, for example, the genus and species *Phytophthora infestans*, or a omega-3 desaturase from algae such as the family *Prasinophyceae*, for example, the genus *Ostreococcus* and, particularly, the genus and species *Ostreococcus tauri* or diatomaceae such as the genus *Thalassiosira* and, particularly, the genus and species *Thalassiosira pseudonana*. The invention also relates to the nucleic acid sequences, nucleic acid constructs, vectors and organisms containing the nucleic acid sequences and/or the nucleic acid constructs and transgenic organisms containing said nucleic acid sequences, nucleic acid constructs and/or vectors. A further part of the invention relates to oils, lipids and/or fatty acids produced according to the above method and use thereof and, furthermore, unsaturated fatty acids and triglycerides with an increased content of unsaturated fatty acids and use

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



thereof.

---

Data supplied from the *esp@cenet* database - Worldwide

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
10. Februar 2005 (10.02.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2005/012316 A2

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :	C07H	103 59 593.7	18. Dezember 2003 (18.12.2003)	DE
(21) Internationales Aktenzeichen:	PCT/EP2004/007957	10 2004 009 457.8		
(22) Internationales Anmeldedatum:			27. Februar 2004 (27.02.2004)	DE
	16. Juli 2004 (16.07.2004)	10 2004 012 370.5	13. März 2004 (13.03.2004)	DE
		10 2004 024 014.0	14. Mai 2004 (14.05.2004)	DE
(25) Einreichungssprache:	Deutsch	(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US):	BASF PLANT SCIENCE GMBH [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).	
(26) Veröffentlichungssprache:	Deutsch	(72) Erfinder; und		
(30) Angaben zur Priorität:		(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):	ZANK, Thorsten [DE/DE]; Seckenheimer Str. 4-6, 68165 Mannheim (DE). BAUER, Jörg [DE/DE]; Thorwaldsenstr. 4A,	
103 35 992.3	1. August 2003 (01.08.2003)	DE		
103 44 557.9	24. September 2003 (24.09.2003)	DE		
103 47 869.8	10. Oktober 2003 (10.10.2003)	DE		

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR THE PRODUCTION OF MULTIPLY-UNSATURATED FATTY ACIDS IN TRANSGENIC ORGANISMS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG MEHRFACH UNGESÄTTIGTER FETTSÄUREN IN TRANSGENEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for the production of multiply-unsaturated fatty acids in an organism, into which nucleic acids have been introduced, which code for polypeptides with  $\Delta$ -5 elongase activity. Said nucleic acid sequences, optionally with further nucleic acid sequences, coding for polypeptides for the biosynthesis of fatty acids and lipid metabolism, are advantageously expressed in the organism. Nucleic acid sequences coding for a  $\Delta$ -6 desaturase, a  $\Delta$ -5 desaturase,  $\Delta$ -4 desaturase and/or  $\Delta$ -6 elongase activity are particularly advantageous and, advantageously, said saturases and elongases are derived from *Thalassiosira*, *Euglena* or *Ostreococcus*. The invention further relates to a method for the production of oils and/or triacylglycerides with an increased content of long-chain, multiply-unsaturated fatty acids. A particular embodiment of the invention is a method for the production of unsaturated  $\omega$ -3 fatty acids and a method for the production of triglycerides with an increased content of unsaturated fatty acids, in particular, of  $\Delta$ -3 fatty acids with more than three double bonds. Also disclosed is the production of a transgenic organism, preferably a transgenic plant, or a transgenic microorganism with increased content of  $\omega$ -3 fatty acids, oils or lipids with  $\omega$ -3 double bonds as a result of the expression of the elongases and desaturases employed in the above method, preferably in combination with  $\omega$ -3 desaturases, for example a  $\omega$ -3 desaturase from fungi of the family Pythiaceae such as the genus *Phytophthora*, for example, the genus and species *Phytophthora infestans*, or a  $\omega$ -3 desaturase from algae such as the family Prasinophyceae, for example, the genus *Ostreococcus* and, particularly, the genus and species *Ostreococcus tauri* or diatomaceae such as the genus *Thalassiosira* and, particularly, the genus and species *Thalassiosira pseudonana*. The invention also relates to the nucleic acid sequences, nucleic acid constructs, vectors and organisms containing the nucleic acid sequences and/or the nucleic acid constructs and transgenic organisms containing said nucleic acid sequences, nucleic acid constructs and/or vectors. A further part of the invention relates to oils, lipids and/or fatty acids produced according to the above method and use thereof and, furthermore, unsaturated fatty acids and triglycerides with an increased content of unsaturated fatty acids and use thereof.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus, indem Nukleinsäuren in den Organismus eingebracht werden, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide der Biosynthese des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren, in dem Organismus exprimiert werden. Besonders vorteilhaft sind Nukleinsäuresequenzen, die für eine  $\Delta$ -6-Desaturase-, eine  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase und/oder  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft stammen diese Desaturasen und Elongasen aus *Thalassiosira*, *Euglena* oder *Ostreococcus*. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triacylglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Die vorliegende Erfindung betrifft ausserdem in einer bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Herstellung von ungesättigten  $\omega$ -3 Fettsäuren sowie ein Verfahren zur Herstellung von Triglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, besonders von  $\omega$ -3 Fettsäuren mit mehr als drei Doppelbindungen. Die Erfindung betrifft die Herstellung eines transgenen Organismus bevorzugt einer transgenen Pflanze oder eines transgenen Mikroorganismus mit erhöhtem Gehalt an ungesättigten  $\omega$ -3-Fettsäuren, Ölen oder Lipiden mit  $\omega$ -3-Doppelbindungen aufgrund der Expression der im erfindungsgemässen Verfahren verwendeten Elongasen und Desaturasen

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/012316 A2



67061 Ludwigshafen (DE). **CIRPUS, Petra** [DE/DE]; Landteilst. 12, 68163 Mannheim (DE). **ABBADI, Amine** [DE/DE]; Lübbesmeyer Weg 26, 22549 Hamburg (DE). **HEINZ, Ernst** [DE/DE]; Püttkampsweg 13, 22609 Hamburg (DE). **QIU, Xiao** [CN/CA]; 403 Kendarine Road, Saskatoon, Sk., S7N 3S5 (CA). **VRINTEN, Patricia** [CA/CA]; 725 310 Stillwater Drive, Saskatoon, Sk. S7J 4H5 (CA). **SPERLING, Petra** [DE/DE]; Eberhardstr. 9, 22041 Hamburg (DE). **DOMERGUE, Frederic** [FR/DE]; Bahrenfelder Steindamm 98, 22761 Hamburg (DE). **MEYER, Astrid** [DE/DE]; Jessenstr. 14, 22767 Hamburg (DE). **KIRSCH, Jelena** [DE/DE]; Ohnhorststr. 18, 22609 Hamburg (DE).

(74) **Anwalt: PRESSLER, Uwe**; c/o BASF Aktiengesellschaft, 67056 Ludwigshafen (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,

MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

#### Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

vorteilhaft in Verbindung mit  $\omega$ -3-Desaturasen z.B. einer  $\omega$ -3-Desaturase aus Pilzen der Familie Pythiaceae wie der Gattung Phytophthora beispielsweise der Gattung und Art Phytophthora infestans oder einer  $\omega$ -3-Desaturase aus Algen wie der Familie der Prasinophyceae z.B. der Gattung Ostreococcus speziell der Gattung und Art Ostreococcus tauri oder Diatomeen wie der Gattung Thalassiosira speziell der Gattung und Art Thalassiosira pseudonana. Die Erfindung betrifft weiterhin die Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte, Vektoren und Organismen enthaltend die erfindungsgemässen Nukleinsäuresequenzen, Vektoren enthaltend die Nukleinsäuresequenzen und/oder die Nukleinsäurekonstrukte sowie transgene Organismen enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte und/oder Vektoren. Ein weiterer Teil der Erfindung betrifft Öle, Lipide und/oder Fettsäuren hergestellt nach dem erfindungsgemässen Verfahren und deren Verwendung. Ausserdem betrifft die Erfindung ungesättigte Fettsäuren sowie Triglyceride mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und deren Verwendung.

## Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in transgenen Organismen

### Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus, indem Nukleinsäuren in den Organismus eingebracht werden, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide der Biosynthese des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren, in dem Organismus exprimiert werden. Besonders vorteilhaft sind Nukleinsäuresequenzen, die für eine  $\Delta$ -6-Desaturase-, eine  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -12-Desaturase- und/oder  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft stammen diese Desaturasen und Elongasen aus *Thalassiosira*, *Euglena* oder *Ostreococcus*. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triacylglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem in einer bevorzugten Ausführungsform ein Verfahren zur Herstellung von ungesättigten  $\omega$ -3 Fettsäuren sowie ein Verfahren zur Herstellung von Triglyceriden mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, besonders von  $\omega$ -3 Fettsäuren mit mehr als drei Doppelbindungen. Die Erfindung betrifft die Herstellung eines transgenen Organismus bevorzugt einer transgenen Pflanze oder eines transgenen Mikroorganismus mit erhöhtem Gehalt an ungesättigten  $\omega$ -3-Fettsäuren, Ölen oder Lipiden mit  $\omega$ -3-Doppelbindungen aufgrund der Expression der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Elongasen und Desaturasen vorteilhaft in Verbindung mit  $\omega$ -3-Desaturasen z.B. einer  $\omega$ -3-Desaturase aus Pilzen der Familie Pythiaceae wie der Gattung Phytophthora beispielsweise der Gattung und Art Phytophthora infestans oder einer  $\omega$ -3-Desaturase aus Algen wie der Familie der Prasinophyceae z.B. der Gattung Ostreococcus speziell der Gattung und Art Ostreococcus tauri oder Diatomeen wie der Gattung Thalassiosira speziell der Gattung und Art Thalassiosira pseudonana.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte, Vektoren und Organismen enthaltend die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Vektoren enthaltend die Nukleinsäuresequenzen und/oder die Nukleinsäurekonstrukte sowie transgene Organismen enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen, Nukleinsäurekonstrukte und/oder Vektoren.

Ein weiterer Teil der Erfindung betrifft Öle, Lipide und/oder Fettsäuren hergestellt nach dem erfindungsgemäßen Verfahren und deren Verwendung. Außerdem betrifft die Erfindung ungesättigte Fettsäuren sowie Triglyceride mit einem erhöhten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und deren Verwendung.

Fettsäuren und Triacylglyceride haben eine Vielzahl von Anwendungen in der Lebensmittelindustrie, der Tierernährung, der Kosmetik und im Pharmabereich.

Je nachdem, ob es sich um freie gesättigte und ungesättigte Fettsäuren oder um Triacylglyceride mit einem erhöhten Gehalt an gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren handelt, sind sie für die unterschiedlichsten Anwendungen geeignet. Mehrfach-  
5 ungesättigte Fettsäuren wie Linol- und Linolensäure sind für Säugetiere essentiell, da sie nicht von diesen selbst hergestellt werden können. Deshalb stellen mehrfach ungesättigte  $\omega$ -3-Fettsäuren und  $\omega$ -6-Fettsäuren einen wichtigen Bestandteil der tierischen und menschlichen Nahrung dar.

Mehrfach ungesättigte langkettige  $\omega$ -3-Fettsäuren wie Eicosapentaensäure (= EPA, C20:5<sup>Δ5,8,11,14,17</sup>) oder Docosahexaensäure (= DHA, C22:6<sup>Δ4,7,10,13,16,19</sup>) sind wichtige  
10 Komponenten der menschlichen Ernährung aufgrund ihrer verschiedenen Rollen in der Gesundheit, die Aspekte wie die Entwicklung des kindlichen Gehirns, der Funktionalität des Auges, der Synthese von Hormonen und anderer Signalstoffe, sowie die Vorbeugung von Herz-Kreislauf-Beschwerden, Krebs und Diabetes umfassen (Poulos, A Lipids 30:1-14, 1995; Horrocks, LA und Yeo YK Pharmacol Res 40:211-225, 1999). Es  
15 besteht aus diesem Grund ein Bedarf an der Produktion mehrfach ungesättigter langkettiger Fettsäuren.

Aufgrund der heute üblichen Zusammensetzung der menschlichen Nahrung ist ein Zusatz von mehrfach ungesättigten  $\omega$ -3-Fettsäuren, die bevorzugt in Fischölen  
vorkommen, zur Nahrung besonders wichtig. So werden beispielsweise mehrfach  
20 ungesättigte Fettsäuren wie Docosahexaensäure (= DHA, C22:6<sup>Δ4,7,10,13,16,19</sup>) oder Eicosapentaensäure (= EPA, C20:5<sup>Δ5,8,11,14,17</sup>) Babynahrung zur Erhöhung des Nährwertes zugesetzt. Der ungesättigten Fettsäure DHA wird dabei ein positiver Effekt auf die Entwicklung und Aufrechterhaltung von Gehirnfunktionen zugeschrieben.

Im folgenden werden mehrfach ungesättigte Fettsäuren als PUFA, PUFAs, LCPUFA  
25 oder LCPUFAs bezeichnet (poly unsaturated fatty acids, PUFA, mehrfach ungesättigte Fettsäuren; long chain poly unsaturated fatty acids, LCPUFA, langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren).

Hauptsächlich werden die verschiedenen Fettsäuren und Triglyceride aus Mikroorganismen wie Mortierella oder Schizochytrium oder aus Öl-produzierenden Pflanzen  
30 wie Soja, Raps, Algen wie Cryptocodinium oder Phaeodactylum und weiteren gewonnen, wobei sie in der Regel in Form ihrer Triacylglyceride (= Triglyceride = Tri-glycerole) anfallen. Sie können aber auch aus Tieren wie z.B. Fischen gewonnen werden. Die freien Fettsäuren werden vorteilhaft durch Verseifung hergestellt. Sehr  
langkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie DHA, EPA, Arachidonsäure (= ARA, C20:4<sup>Δ5,8,11,14</sup>), Dihomo- $\gamma$ -linolensäure (C20:3<sup>Δ8,11,14</sup>) oder Docosapentaensäure (DPA, C22:5<sup>Δ7,10,13,16,19</sup>) werden in Ölfruchtpflanzen wie Raps, Soja, Sonnenblume, Färber-  
35 saflor nicht synthetisiert. Übliche natürliche Quellen für diese Fettsäuren sind Fische wie Hering, Lachs, Sardine, Goldbarsch, Aal, Karpfen, Forelle, Heilbutt, Makrele, Zander oder Thunfisch oder Algen.

40 Je nach Anwendungszweck werden Öle mit gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren bevorzugt. So werden z.B. in der humanen Ernährung Lipide mit ungesättigten Fett-

säuren speziell mehrfach ungesättigten Fettsäuren bevorzugt. Den mehrfach ungesättigten  $\omega$ -3-Fettsäuren wird dabei ein positiver Effekt auf den Cholesterinspiegel im Blut und damit auf die Möglichkeit der Prävention einer Herzerkrankung zugeschrieben. Durch Zugabe dieser  $\omega$ -3-Fettsäuren zur Nahrung kann das Risiko einer Herzerkrankung, eines Schlaganfalls oder von Bluthochdruck deutlich verringert werden. Auch entzündliche speziell chronisch entzündliche Prozesse im Rahmen immunologischer Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis lassen sich durch  $\omega$ -3-Fettsäuren positiv beeinflussen. Sie werden deshalb Lebensmitteln speziell diätischen Lebensmitteln zugegeben oder finden in Medikamenten Anwendung.  $\omega$ -6-Fettsäuren wie Arachidonsäure haben bei diesen rheumatischen Erkrankungen aufgrund unserer üblichen Nahrungsmittelzusammensetzung eher einen negativen Effekt auf diese Krankheiten.

$\omega$ -3- und  $\omega$ -6-Fettsäuren sind Vorläufer von Gewebshormonen, den sogenannten Eicosanoiden wie den Prostaglandinen, die sich von der Dihomo- $\gamma$ -linolensäure, der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten, den Thromoxanen und Leukotrienen, die sich von der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten. Eicosanoide (sog. PG<sub>2</sub>-Serie), die aus  $\omega$ -6-Fettsäuren gebildet werden fördern in der Regel Entzündungsreaktionen, während Eicosanoide (sog. PG<sub>3</sub>-Serie) aus  $\omega$ -3-Fettsäuren geringe oder keine entzündungsfördernde Wirkung haben.

Aufgrund ihrer positiven Eigenschaften hat es in der Vergangenheit nicht an Ansätzen gefehlt, Gene, die an der Synthese von Fettsäuren bzw. Triglyceriden beteiligt sind, für die Herstellung von Ölen in verschiedenen Organismen mit geänderten Gehalt an ungesättigten Fettsäuren verfügbar zu machen. So wird in WO 91/13972 und seinem US-Äquivalent eine  $\Delta$ -9-Desaturase beschrieben. In WO 93/11245 wird eine  $\Delta$ -15-Desaturase in WO 94/11516 wird eine  $\Delta$ -12-Desaturase beansprucht. Weitere Desaturasen werden beispielsweise in EP-A-0 550 162, WO 94/18337, WO 97/30582, WO 97/21340, WO 95/18222, EP-A-0 794 250, Stukely et al., J. Biol. Chem., 265, 1990: 20144-20149, Wada et al., Nature 347, 1990: 200-203 oder Huang et al., Lipids 34, 1999: 649-659 beschrieben. Die biochemische Charakterisierung der verschiedenen Desaturasen ist jedoch bisher nur unzureichend erfolgt, da die Enzyme als membrangebundene Proteine nur sehr schwer zu isolieren und zu charakterisieren sind (McKeon et al., Methods in Enzymol. 71, 1981: 12141-12147, Wang et al., Plant Physiol. Biochem., 26, 1988: 777-792). In der Regel erfolgt die Charakterisierung membrangebundener Desaturasen durch Einbringung in einen geeigneten Organismus, der anschließend auf Enzymaktivität mittels Edukt- und Produktanalyse untersucht wird.  $\Delta$ -6-Desaturasen werden in WO 93/06712, US 5,614,393, US5614393, WO 96/21022, WO00/21557 und WO 99/27111 beschrieben und auch die Anwendung zur Produktion in transgenen Organismen beschrieben wie in WO98/46763 WO98/46764, WO9846765. Dabei wird auch die Expression verschiedener Desaturasen wie in WO99/64616 oder WO98/46776 und Bildung polyungesättigter Fettsäuren beschrieben und beansprucht. Bzgl. der Effektivität der Expression von Desaturasen und ihren Einfluss auf die Bildung polyungesättigter Fettsäuren ist anzumerken, dass durch Expression einer einzelnen Desaturase wie bisher beschrieben lediglich geringe

Gehalte an ungesättigten Fettsäuren/Lipiden wie z.B.  $\gamma$ -Linolensäure und Stearidon-  
säure erreicht wurden. Weiterhin wurde in der Regel ein Gemisch aus  $\omega$ -3- und  $\omega$ -6-  
Fettsäuren erhalten.

5 Besonders geeignete Mikroorganismen zur Herstellung von PUFAs sind Mikro-  
organismen wie Mikroalgen wie *Phaeodactylum tricornutum*, *Porphiridium*-Arten,  
Thraustochytrien-Arten, Schizochytrien-Arten oder *Cryptocodinium*-Arten, Ciliaten,  
wie *Stylonychia* oder *Colpidium*, Pilze, wie *Mortierella*, *Entomophthora* oder *Mucor*  
und/oder Moosen wie *Physcomitrella*, *Ceratodon* und *Marchantia* (R. Vazhappilly & F.  
Chen (1998) *Botanica Marina* 41: 553-558; K. Totani & K. Oba (1987) *Lipids* 22: 1060-  
1062; M. Akimoto et al. (1998) *Appl. Biochemistry and Biotechnology* 73: 269-278).  
10 Durch Stammselektion ist eine Anzahl von Mutantenstämmen der entsprechenden  
Mikroorganismen entwickelt worden, die eine Reihe wünschenswerter Verbindungen,  
einschließlich PUFAs, produzieren. Die Mutation und Selektion von Stämmen mit  
verbesserter Produktion eines bestimmten Moleküls wie den mehrfach ungesättigten  
15 Fettsäuren ist jedoch ein zeitraubendes und schwieriges Verfahren. Deshalb werden,  
wann immer möglich wie oben beschrieben gentechnologische Verfahren bevorzugt.  
Mit Hilfe der vorgenannten Mikroorganismen lassen sich jedoch nur begrenzte Mengen  
der gewünschten mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie DPA, EPA oder ARA her-  
stellen. Wobei diese in der Regel je nach verwendeten Mikroorganismus als Fettsäure-  
20 gemische aus beispielsweise EPA, DPA und ARA anfallen.

Für die Synthese von Arachidonsäure, Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahe-  
xaensäure (DHA) werden verschiedene Synthesewege diskutiert (Figur. 1). So erfolgt  
die Produktion von EPA bzw. DHA in marinen Bakterien wie *Vibrio* sp. oder *Shewanella*  
sp. nach dem Polyketid-Weg (Yu, R. et al. *Lipids* 35:1061-1064, 2000; Takeyama, H.  
25 et al. *Microbiology* 143:2725-2731, 1997).

Ein alternative Strategie verläuft über die wechselnde Aktivität von Desaturasen und  
Elongasen (Zank, T.K. et al. *Plant Journal* 31:255-268, 2002; Sakuradani, E. et al.  
Gene 238:445-453, 1999). Eine Modifikation des beschriebenen Weges über  $\Delta$ 6-  
Desaturase,  $\Delta$ 6-Elongase,  $\Delta$ 5-Desaturase,  $\Delta$ 5-Elongase,  $\Delta$ 4-Desaturase ist der  
30 Sprecher-Syntheseweg (Sprecher 2000, *Biochim. Biophys. Acta* 1486:219-231) in  
Säugetieren. Anstelle der  $\Delta$ 4-Desaturierung erfolgt hier ein weiterer Elongationsschritt  
auf  $C_{24}$ , eine weitere  $\Delta$ 6-Desaturierung und abschliessend eine  $\beta$ -Oxidation auf die  $C_{22}$ -  
Kettenlänge. Für die Herstellung in Pflanzen und Mikroorganismen ist der sogenannte  
Sprecher-Syntheseweg (siehe Figur 1) allerdings nicht geeignet, da die Regulations-  
35 mechanismen nicht bekannt sind.

Die polyungesättigten Fettsäuren können entsprechend ihrem Desaturierungsmuster in  
zwei große Klassen, in  $\omega$ -6- oder  $\omega$ -3-Fettsäuren eingeteilt werden, die metabolisch  
und funktionell unterschiedlich Aktivitäten haben (Fig. 1).

40 Als Ausgangsprodukt für den  $\omega$ -6-Stoffwechselweg fungiert die Fettsäure Linolsäure  
(18:2 <sup>$\Delta$ 9,12</sup>), während der  $\omega$ -3-Weg über Linolensäure (18:3 <sup>$\Delta$ 9,12,15</sup>) abläuft. Linolensäure



wird dabei durch Aktivität einer  $\omega$ -3-Desaturase gebildet (Tocher et al. 1998, Prog. Lipid Res. 37, 73-117 ; Domergue et al. 2002, Eur. J. Biochem. 269, 4105-4113).

Säugetiere und damit auch der Mensch verfügen über keine entsprechende Desaturaseaktivität ( $\Delta$ -12- und  $\omega$ -3-Desaturase) und müssen diese Fettsäuren (essentielle Fettsäuren) über die Nahrung aufnehmen. Über die Abfolge von Desaturase- und Elongase-Reaktionen werden dann aus diesen Vorstufen die physiologisch wichtigen polyungesättigten Fettsäuren Arachidonsäure (= ARA, 20:4 <sup>$\Delta$ 5,8,11,14</sup>), eine  $\omega$ -6-Fettsäure und die beiden  $\omega$ -3-Fettsäuren Eicosapentaen- (= EPA, 20:5 <sup>$\Delta$ 5,8,11,14,17</sup>) und Docosahexaensäure (DHA, 22:6 <sup>$\Delta$ 4,7,10,13,17,19</sup>) synthetisiert. Die Applikation von  $\omega$ -3-Fettsäuren zeigt dabei die wie oben beschrieben therapeutische Wirkung bei der Behandlung von Herz-Kreislaufkrankheiten (Shimikawa 2001, World Rev. Nutr. Diet. 88, 100-108), Entzündungen (Calder 2002, Proc. Nutr. Soc. 61, 345-358) und Arthritis (Cleland und James 2000, J. Rheumatol. 27, 2305-2307).

Aus ernährungsphysiologischer Sicht ist es deshalb wichtig bei der Synthese mehrfach ungesättigter Fettsäuren eine Verschiebung zwischen dem  $\omega$ -6-Syntheseweg und dem  $\omega$ -3-Syntheseweg (siehe Figur 1) zu erreichen, so dass mehr  $\omega$ -3-Fettsäuren hergestellt werden. In der Literatur wurden die enzymatischen Aktivitäten verschiedener  $\omega$ -3-Desaturasen beschrieben, die C<sub>18:2</sub>-, C<sub>22:4</sub>- oder C<sub>22:5</sub>-Fettsäuren desaturieren (siehe Figur 1). Keine der biochemisch beschriebenen Desaturasen setzt jedoch ein breites Substratspektrum des  $\omega$ -6-Synthesewegs zu den entsprechenden Fettsäuren des  $\omega$ -3-Syntheseweg um.

Es besteht daher weiterhin ein großer Bedarf an einer  $\omega$ -3-Desaturase, die zur Herstellung von  $\omega$ -3-polyungesättigte Fettsäuren geeignet ist. Alle bekannten pflanzlichen und cyanobakteriellen  $\omega$ -3-Desaturasen desaturieren C<sub>18</sub>-Fettsäuren mit Linolsäure als Substrat, können aber keine C<sub>20</sub>- oder C<sub>22</sub>-Fettsäuren desaturieren.

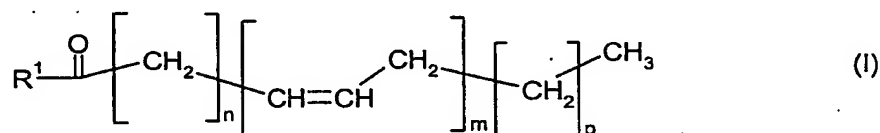
Von dem Pilz *Saprolegnia dicilina* ist eine  $\omega$ -3-Desaturase bekannt [Pereira et al. 2004, Biochem. J. 378(Pt 2):665-71], die C<sub>20</sub>-mehrfach ungesättigte Fettsäuren desaturieren kann. Von Nachteil ist jedoch, dass diese  $\omega$ -3-Desaturase keine C<sub>18</sub>- oder C<sub>22</sub>-PUFAs, wie den wichtigen Fettsäuren C<sub>18:2</sub>-, C<sub>22:4</sub>- oder C<sub>22:5</sub>-Fettsäuren des  $\omega$ -6-Syntheseweg desaturieren kann. Ein weiterer Nachteil dieses Enzyms ist, dass es keine Fettsäuren desaturieren kann, die an Phospholipide gebunden sind. Es werden nur die CoA-Fettsäureester umgesetzt.

Die Verlängerung von Fettsäuren durch Elongasen um 2 bzw. 4 C-Atome ist für die Produktion von C<sub>20</sub>- bzw. C<sub>22</sub>-PUFAs von entscheidender Bedeutung. Dieser Prozess verläuft über 4 Stufen. Der erste Schritt stellt die Kondensation von Malonyl-CoA an das Fettsäure-Acyl-CoA durch die Ketoacyl-CoA-Synthase (KCS, im weiteren Text als Elongase bezeichnet). Es folgt dann ein Reduktionsschritt (Ketoacyl-CoA-Reduktase, KCR), ein Dehydratationsschritt (Dehydratase) und ein abschliessender Reduktionsschritt (enoyl-CoA-Reduktase). Es wurde postuliert, dass die Aktivität der Elongase die Spezifität und Geschwindigkeit des gesamten Prozesses beeinflussen (Millar and Kunst, 1997 Plant Journal 12:121-131).

- In der Vergangenheit wurden zahlreiche Versuche unternommen, Elongase Gene zu erhalten. Millar and Kunst, 1997 (Plant Journal 12:121-131) und Millar et al. 1999, (Plant Cell 11:825-838) beschreiben die Charakterisierung von pflanzlichen Elongasen zur Synthese von einfachungesättigten langkettigen Fettsäuren (C22:1) bzw. zur Synthese von sehr langkettigen Fettsäuren für die Wachsbildung in Pflanzen
- 5    (C<sub>28</sub>-C<sub>32</sub>). Beschreibungen zur Synthese von Arachidonsäure und EPA finden sich beispielsweise in WO0159128, WO0012720, WO02077213 und WO0208401. Die Synthese von mehrfachungesättigter C24 Fettsäuren ist beispielsweise in Tvrdik et al 2000, JCB 149:707-717 oder WO0244320 beschrieben.
- 10    Zur Herstellung von DHA (C22:6 n-3) in Organismen, die diese Fettsäure natürlicherweise nicht produzieren, wurde bisher keine spezifische Elongase beschrieben. Bisher wurden nur Elongasen beschrieben, die C<sub>20</sub>- bzw. C<sub>24</sub>-Fettsäuren bereitstellen. Eine  $\Delta$ -5-Elongase-Aktivität wurde bisher noch nicht beschrieben.
- 15    Höhere Pflanzen enthalten mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Linolsäure (C18:2) und Linolensäure (C18:3). ARA, EPA und DHA kommen im Samenöl höherer Pflanzen gar nicht oder nur in Spuren vor (E. Ucciani: Nouveau Dictionnaire des Huiles Végétales. Technique & Documentation – Lavoisier, 1995. ISBN: 2-7430-0009-0). Es wäre jedoch vorteilhaft, in höheren Pflanzen, bevorzugt in Ölsaaten wie Raps, Lein, Sonnenblume und Soja, LCPUFAs herzustellen, da auf diese Weise große Mengen qualitativ
- 20    hochwertiger LCPUFAs für die Lebensmittelindustrie, die Tierernährung und für pharmazeutische Zwecke kostengünstig gewonnen werden können. Hierzu müssen vorteilhaft über gentechnische Methoden Gene kodierend für Enzyme der Biosynthese von LCPUFAs in Ölsaaten eingeführt und exprimiert werden. Dies sind Gene, die beispielsweise für  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Elongasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen oder  $\Delta$ -4-
- 25    Desaturasen codieren. Diese Gene können vorteilhaft aus Mikroorganismen und niederen Pflanzen isoliert werden, die LCPUFAs herstellen und in den Membranen oder Triacylglyceriden einbauen. So konnten bereits  $\Delta$ -6-Desaturase-Gene aus dem Moos Physcomitrella patens und  $\Delta$ -6-Elongase-Gene aus P. patens und dem Nematoden C. elegans isoliert.
- 30    Erste transgene Pflanzen, die Gene kodierend für Enzyme der LCPUFA-Biosynthese enthalten und exprimieren und LCPUFAs produzieren wurden beispielsweise in DE 102 19 203 (Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Pflanzen) erstmals beschrieben. Diese Pflanzen produzieren allerdings LCPUFAs in Mengen, die für eine Aufarbeitung der in den Pflanzen enthaltenen Öle noch weiter
- 35    optimiert werden müssen.
- Um eine Anreicherung der Nahrung und/oder des Futters mit diesen mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu ermöglichen, besteht daher ein großer Bedarf an einem einfachen, kostengünstigen Verfahren zur Herstellung dieser mehrfach ungesättigten Fettsäuren speziell in eukaryontischen Systemen.
- 40    Es bestand daher die Aufgabe weitere Gene bzw. Enzyme, die für die Synthese von LCPUFAs geeignet sind, speziell Gene, die eine  $\Delta$ -5-Elongase-, eine  $\Delta$ -5-Desaturase-,

$\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -12-Desaturase- oder  $\Delta$ -6-Desaturaseaktivität aufweisen, für die Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren zur Verfügung zu stellen. Eine weitere Aufgabe dieser Erfindung war die Bereitstellung von Genen bzw. Enzymen, die eine Verschiebung von den  $\omega$ -6-Fettsäuren zu den  $\omega$ -3-Fettsäuren hin ermöglichen.

- 5 Weiterhin bestand die Aufgabe ein Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einem Organismus vorteilhaft in einem eukaryontischen Organismus bevorzugt in einer Pflanze oder einem Mikroorganismus zu entwickeln. Diese Aufgabe wurde durch das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I



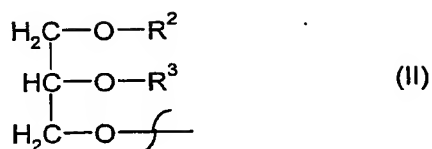
10

in transgenen Organismen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% dieser Verbindungen bezogen auf den Gesamtlipidgehalt des transgenen Organismus, dadurch gekennzeichnet, dass es folgende Verfahrensschritte umfasst:

- 15 a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -9-Elongase- und/oder eine  $\Delta$ -6-Desaturase-Aktivität codiert, und
- b) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -8-Desaturase- und/oder eine  $\Delta$ -6-Elongase-Aktivität codiert, und
- c) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -5-Desaturase-Aktivität codiert, und
- 20 d) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -5-Elongase-Aktivität codiert, und
- e) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -4-Desaturase-Aktivität codiert, und

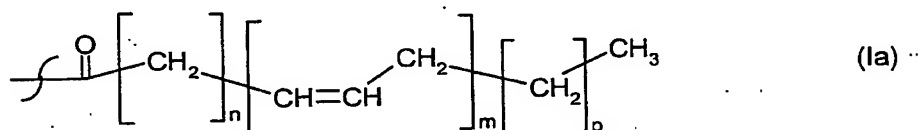
wobei die Variablen und Substituenten in der Formel I die folgende Bedeutung haben:

- 25  $\text{R}^1 =$  Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II



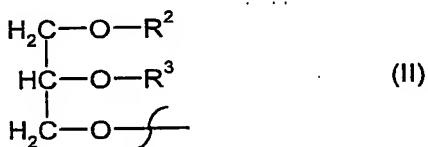
5  $\text{R}^2 =$  Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes oder ungesättigtes  $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-,

$\text{R}^3 =$  Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes  $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-, oder  $\text{R}^2$  oder  $\text{R}^3$  unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia:



10  $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$  oder  $9$ ,  $m = 2, 3, 4, 5$  oder  $6$  und  $p = 0$  oder  $3$ , gelöst.

$\text{R}^1$  bedeutet in der allgemeinen Formel I Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II



15

Die oben genannten Reste von  $\text{R}^1$  sind immer in Form ihrer Thioester an die Verbindungen der allgemeinen Formel I gebunden.

20  $\text{R}^2$  bedeutet in der allgemeinen Formel II Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes  $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-,

25 Als Alkylreste seien substituiert oder unsubstituiert, gesättigt oder ungesättigte  $\text{C}_2\text{-C}_{24}$ -Alkylcarbonyl-Ketten wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octylcarbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Hepta-

- decylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- or n-Tetracosanylcarbonyl- genannt, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Gesättigte oder ungesättigte C<sub>10</sub>-C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-,  
5 n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten, sind bevorzugt. Besonders bevorzugt sind gesättigte und/oder ungesättigte C<sub>10</sub>-C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste wie C<sub>10</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>11</sub>-Alkylcarbonyl-,  
10 C<sub>12</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>13</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>14</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>16</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>18</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>20</sub>-Alkylcarbonyl- oder C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C<sub>16</sub>-C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste wie C<sub>16</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>18</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>20</sub>-Alkylcarbonyl- oder C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen  
15 enthalten. Diese vorteilhaften Reste können zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten. Die besonders vorteilhaften Reste mit 20 oder 22 Kohlenstoffatomen in der Fettsäurekette enthalten bis zu sechs Doppelbindungen, vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.
- 20 R<sup>3</sup> bedeutet in der allgemeinen Formel II Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>-Alkylcarbonyl.

- Als Alkylreste seien substituiert oder unsubstituiert, gesättigt oder ungesättigte C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>-Alkylcarbonyl-Ketten wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octylcarbonyl-, n-Nonylcarbonyl-,  
25 n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- or n-Tetracosanylcarbonyl- genannt, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Gesättigte oder ungesättigte C<sub>10</sub>-C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-,  
30 n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten, sind bevorzugt. Besonders bevorzugt sind gesättigte und/oder ungesättigte C<sub>10</sub>-C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste wie C<sub>10</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>11</sub>-Alkylcarbonyl-,  
35 C<sub>12</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>13</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>14</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>16</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>18</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>20</sub>-Alkylcarbonyl- oder C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C<sub>16</sub>-C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste wie C<sub>16</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>18</sub>-Alkylcarbonyl-, C<sub>20</sub>-Alkylcarbonyl- oder C<sub>22</sub>-Alkylcarbonylreste, die ein oder mehrere Doppelbindungen  
40 enthalten. Diese vorteilhaften Reste können zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten. Die besonders vorteilhaften Reste mit 20 oder 22 Kohlenstoffatomen in der Fettsäurekette enthalten bis zu sechs Doppelbindungen, vorteilhaft drei,

vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.

Die oben genannten Reste von  $R^1$ ,  $R^2$  und  $R^3$  können mit Hydroxyl- und/oder Epoxygruppen substituierte sein und/oder können Dreifachbindungen enthalten.

- 5 Vorteilhaft enthalten die im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren mindestens zwei vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen. Besonders vorteilhaft enthalten die Fettsäuren vier fünf oder sechs Doppelbindungen. Im Verfahren hergestellte Fettsäuren haben vorteilhaft 18-, 20- oder 22-C-Atome in der Fettsäurekette, bevorzugt enthalten die Fettsäuren 20 oder 22 Kohlenstoffatome in der Fettsäurekette. Vorteilhaft werden gesättigte Fettsäuren mit den im  
10 Verfahren verwendeten Nukleinsäuren wenig oder gar nicht umgesetzt. Unter wenig ist zu verstehen, das im Vergleich zu mehrfach ungesättigten Fettsäuren die gesättigten Fettsäuren mit weniger als 5 % der Aktivität, vorteilhaft weniger als 3 %, besonders vorteilhaft mit weniger als 2 %, ganz besonders bevorzugt mit weniger als 1; 0,5; 0,25  
15 oder 0,125 % umgesetzt werden. Diese hergestellten Fettsäuren können als einziges Produkt im Verfahren hergestellt werden oder in einem Fettsäuregemisch vorliegen.

- Bei den im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen handelt es sich um isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  
20  $\Delta$ -5-Elongase- und/oder  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität codieren.

Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität codieren, verwendet ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- 25 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45,  
30 SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO:  
35 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Sequenz, oder
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von den in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8,  
40 SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18,

- SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138 oder SEQ ID NO: 184 dargestellten Aminosäuresequenzen ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138 oder SEQ ID NO: 184 codieren und eine  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 40 Vorteilhaft bedeuten die Substituenten  $R^2$  oder  $R^3$  in den allgemeinen Formeln I und II unabhängig voneinander gesättigtes oder ungesättigtes  $C_{18}$ - $C_{22}$ -Alkylcarbonyl-, besonders vorteilhaft bedeuten sie unabhängig voneinander ungesättigtes  $C_{18}$ -,  $C_{20}$ - oder  $C_{22}$ -Alkylcarbonyl- mit mindestens zwei Doppelbindungen.

Eine bevorzugte Ausführungsform des Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass eine Nukleinsäuresequenz zusätzlich in den Organismus eingebracht wird, die für Polypeptide mit  $\omega$ -3-Desaturase-Aktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- 5 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz, oder
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 10 c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 codieren und eine  $\omega$ 3-Desaturaseaktivität aufweisen.

15 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Verfahren dadurch gekennzeichnet, dass eine Nukleinsäuresequenz zusätzlich in den Organismus eingebracht wird, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -12-Desaturaseaktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz, oder
- 20 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine  $\Delta$ -12-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 25

30 Diese vorgenannten  $\Delta$ -12-Desaturasesequenzen können allein oder in Kombination mit den  $\omega$ 3-Desaturasesequenzen mit den im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen, die für  $\Delta$ -9-Elongasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -8-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Elongasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Elongasen und/oder  $\Delta$ -4-Desaturasen codieren verwendet werden.



Tabelle 1 gibt die Nukleinsäuresequenzen, den Herkunftsorganismus und die Sequenz-ID-Nummer wieder.

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
1.	<i>Euglena gracilis</i>	$\Delta$ -8-Desaturase	SEQ ID NO: 1
2.	<i>Isochrysis galbana</i>	$\Delta$ -9-Elongase	SEQ ID NO: 3
3.	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 5
4.	<i>Ceratodon purpureus</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 7
5.	<i>Physcomitrella patens</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 9
6.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 11
7.	<i>Mortierella alpina</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 13
8.	<i>Caenorhabditis elegans</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 15
9.	<i>Borago officinalis</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 17
10.	<i>Ceratodon purpureus</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 19
11.	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 21
12.	<i>Physcomitrella patens</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 23
13.	<i>Caenorhabditis elegans</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 25
14.	<i>Physcomitrella patens</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 27
15.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 29
16.	<i>Phytophthora infestans</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 31
17.	<i>Mortierella alpina</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 33
18.	<i>Mortierella alpina</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 35
19.	<i>Caenorhabditis elegans</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 37
20.	<i>Euglena gracilis</i>	$\Delta$ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 39
21.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	$\Delta$ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 41
22.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 43
23.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 45
24.	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 47
25.	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 49
26.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 51
27.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 53
28.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 59

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
29.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 61
30.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 63
31.	<i>Thraustochytrium aureum</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 65
32.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 67
33.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 69
34.	<i>Primula farinosa</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 71
35.	<i>Primula vialii</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 73
36.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 75
37.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 77
38.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 79
39.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 81
40.	<i>Thraustochytrium</i> sp.	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 83
41.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 85
42.	<i>Phytophthora infestans</i>	$\omega$ -3-Desaturase	SEQ ID NO: 87
43.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 89
44.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 91
45.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 93
46.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 95
47.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -6-Desaturase	SEQ ID NO: 97
48.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 99
49.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -5-Desaturase	SEQ ID NO: 101
50.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -4-Desaturase	SEQ ID NO: 103
51.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\omega$ -3-Desaturase	SEQ ID NO: 105
52.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -12-Desaturase	SEQ ID NO: 107
53.	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	$\Delta$ -12-Desaturase	SEQ ID NO: 109
54.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 111
55.	<i>Ostreococcus tauri</i>	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 113
56.	<i>Xenopus laevis</i> (BC044967)	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 117
57.	<i>Ciona intestinalis</i> (AK112719)	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 119

Nr.	Organismus	Aktivität	Sequenznummer
58.	Euglena gracilis	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 131
59.	Euglena gracilis	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 133
60.	Arabidopsis thaliana	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 135
61.	Arabidopsis thaliana	$\Delta$ -5-Elongase	SEQ ID NO: 137
62.	Phaeodactylum tricornutum	$\Delta$ -6-Elongase	SEQ ID NO: 183

Die im Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren sind vorteilhaft in Membranlipiden und/oder Triacylglyceriden gebunden, können aber auch als freie Fettsäuren oder aber gebunden in Form anderer Fettsäureester in den Organismen vorkommen. Dabei können sie als "Reinprodukte" oder aber vorteilhaft in Form von Mischungen verschiedener Fettsäuren oder Mischungen unterschiedlicher Glyceride vorliegen. Die in den Triacylglyceriden gebundenen verschiedenen Fettsäuren lassen sich dabei von kurzkettigen Fettsäuren mit 4 bis 6 C-Atomen, mittelkettigen Fettsäuren mit 8 bis 12 C-Atomen oder langkettigen Fettsäuren mit 14 bis 24 C-Atomen ableiten, bevorzugt sind die langkettigen Fettsäuren besonders bevorzugt sind die langkettigen Fettsäuren LCPUFAs von C<sub>18</sub>-, C<sub>20</sub>- und/oder C<sub>22</sub>-Fettsäuren.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden vorteilhaft Fettsäureester mit mehrfach ungesättigten C<sub>18</sub>-, C<sub>20</sub>- und/oder C<sub>22</sub>-Fettsäuremolekülen mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäureester, vorteilhaft mit mindestens drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäureester, besonders vorteilhaft von mindestens fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäureester hergestellt und führen vorteilhaft zur Synthese von Linsäure (= LA, C<sub>18</sub>:2<sup>Δ<sup>9,12</sup></sup>), γ-Linolensäure (= GLA, C<sub>18</sub>:3<sup>Δ<sup>6,9,12</sup></sup>), Stearidonsäure (= SDA, C<sub>18</sub>:4<sup>Δ<sup>6,9,12,15</sup></sup>), Dihomo-γ-Linolensäure (= DGLA, C<sub>20</sub>:3<sup>Δ<sup>8,11,14</sup></sup>), ω-3-Eicosatetraensäure (= ETA, C<sub>20</sub>:4<sup>Δ<sup>5,8,11,14</sup></sup>), Arachidonsäure (ARA, C<sub>20</sub>:4<sup>Δ<sup>5,8,11,14</sup></sup>), Eicosapentaensäure (EPA, C<sub>20</sub>:5<sup>Δ<sup>5,8,11,14,17</sup></sup>), ω-6-Docosapentaensäure (C<sub>22</sub>:5<sup>Δ<sup>4,7,10,13,16</sup></sup>), ω-6-Docosatetraensäure (C<sub>22</sub>:4<sup>Δ<sup>7,10,13,16</sup></sup>), ω-3-Docosapentaensäure (= DPA, C<sub>22</sub>:5<sup>Δ<sup>7,10,13,16,19</sup></sup>), Docosahexaensäure (= DHA, C<sub>22</sub>:6<sup>Δ<sup>4,7,10,13,16,19</sup></sup>) oder deren Mischungen, bevorzugt ARA, EPA und/oder DHA. Ganz besonders bevorzugt werden, ω-3-Fettsäuren wie EPA und/oder DHA hergestellt.

Die Fettsäureester mit mehrfach ungesättigten C<sub>18</sub>-, C<sub>20</sub>- und/oder C<sub>22</sub>-Fettsäuremolekülen können aus den Organismen, die für die Herstellung der Fettsäureester verwendet wurden, in Form eines Öls oder Lipids beispielsweise in Form von Verbindungen wie Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide wie Glycosphingolipide, Phospholipide wie Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylcholin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol oder Diphosphatidylglycerol, Monoacylglyceride, Diacylglyceride, Triacylglyceride oder sonstige Fettsäureester wie die AcetylCoenzymA-Ester, die die mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit mindestens zwei, drei, vier, fünf oder sechs bevorzugt fünf oder sechs Doppelbindungen enthalten, isoliert werden, vorteilhaft werden sie in der Form ihrer Diacylglyceride, Triacylglyceride und/oder in Form des Phosphatidylcholin isoliert, besonders bevorzugt in der Form der

Triacylglyceride. Neben diesen Estern sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren auch als freie Fettsäuren oder gebunden in anderen Verbindungen in den Organismen vorteilhaft den Pflanzen enthalten. In der Regel liegen die verschiedenen vorgenannten Verbindungen (Fettsäureester und frei Fettsäuren) in den Organismen in einer ungefähren Verteilung von 80 bis 90 Gew.-% Triglyceride, 2 bis 5 Gew.-% Diglyceride, 5 bis 10 Gew.-% Monoglyceride, 1 bis 5 Gew.-% freie Fettsäuren, 2 bis 8 Gew.-% Phospholipide vor, wobei sich die Summe der verschiedenen Verbindungen zu 100 Gew.-% ergänzt.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden die hergestellten LCPUFAs mit einem Gehalt von mindestens 3 Gew.-%, vorteilhaft von mindestens 5 Gew.-%, bevorzugt von mindestens 8 Gew.-%, besonders bevorzugt von mindestens 10 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt von mindestens 15 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren in den transgenen Organismen vorteilhaft in einer transgenen Pflanze hergestellt. Dabei werden vorteilhaft C<sub>18</sub>- und/oder C<sub>20</sub>-Fettsäuren, die in den Wirtsorganismen vorhanden sind, zu mindestens 10 %, vorteilhaft zu mindestens 20 %, besonders vorteilhaft zu mindestens 30 %, ganz besonders vorteilhaft zu mindestens 40 % in die entsprechenden Produkte wie DPA oder DHA, um nur zwei beispielhaft zu nennen, umgesetzt. Vorteilhaft werden die Fettsäuren in gebundener Form hergestellt. Mit Hilfe der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren lassen sich diese ungesättigten Fettsäuren an sn1-, sn2- und/oder sn3-Position der vorteilhaft hergestellten Triglyceride bringen. Da im erfindungsgemäßen Verfahren von den Ausgangsverbindungen Linolsäure (C18:2) bzw. Linolensäure (C18:3) mehrere Reaktionsschritte durchlaufen werden, fallen die Endprodukte des Verfahrens wie beispielsweise Arachidonsäure (ARA), Eicosapentaensäure (EPA),  $\omega$ -6-Docosapentaensäure oder DHA nicht als absolute Reinprodukte an, es sind immer auch geringe Spuren der Vorstufen im Endprodukt enthalten. Sind in dem Ausgangsorganismus bzw. in der Ausgangspflanze beispielsweise sowohl Linolsäure als auch Linolensäure vorhanden, so liegen die Endprodukte wie ARA, EPA oder DHA als Mischungen vor. Die Vorstufen sollten vorteilhaft nicht mehr als 20 Gew.-%, bevorzugt nicht mehr als 15 Gew.-%, besonders bevorzugt nicht mehr als 10 Gew.-%, ganz besonders bevorzugt nicht mehr als 5 Gew.-% bezogen auf die Menge des jeweiligen Endprodukts betragen. Vorteilhaft werden in einer transgenen Pflanze als Endprodukte nur ARA, EPA oder nur DHA im erfindungsgemäßen Verfahren gebunden oder als freie Säuren hergestellt. Werden die Verbindungen ARA, EPA und DHA gleichzeitig hergestellt, werden sie vorteilhaft in einem Verhältnis von mindesten 1:1:2 (EPA:ARA:DHA), vorteilhaft von mindestens 1:1:3, bevorzugt von 1:1:4, besonders bevorzugt von 1:1:5 hergestellt.

Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, enthalten vorteilhaft 6 bis 15 % Palmitinsäure, 1 bis 6 % Stearinsäure; 7 – 85 % Ölsäure; 0,5 bis 8 % Vaccensäure, 0,1 bis 1 % Arachinsäure, 7 bis 25 % gesättigte Fettsäuren, 8 bis 85 % einfach ungesättigte Fettsäuren und 60 bis 85 % mehrfach ungesättigte Fettsäuren jeweils bezogen auf 100 % und auf den Gesamtfettsäuregehalt der Organismen. Als vorteilhafte mehrfach ungesättigte Fettsäure sind in den Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische bevorzugt mindestens

- 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 oder 1 % bezogen auf den Gesamtfettsäuregehalt an Arachidonsäure enthalten. Weiterhin enthalten die Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, vorteilhaft Fettsäuren ausgewählt aus der Gruppe der Fettsäuren Erucasäure (13-Docosaensäure), Sterculinsäure (9,10-Methylene octadec-9-enonsäure), Malvalinsäure (8,9-Methylen Heptadec-8-enonsäure), Chaulmoogrinsäure (Cyclopentendodecansäure), Furan-Fettsäure (9,12-Epoxy-octadeca-9,11-dienonsäure), Vernonsäure (9,10-Epoxyoctadec-12-enonsäure), Tarinsäure (6-Octadecynonsäure), 6-Nonadecynonsäure, Santalbinsäure (11-Octadecen-9-ynoic acid), 6,9-Octadecenynonsäure, Pyrulinsäure (10-Heptadecen-8-ynonsäure), Crepenyninsäure (9-Octadecen-12-ynonsäure), 13,14-Dihydrooropheinsäure, Octadecen-13-ene-9,11-diyonsäure, Petroselensäure (cis-6-Octadecenonsäure), 9c,12t-Octadecadiensäure, Calendulasäure (8t10t12c-Octadecatriensäure), Catalpinsäure (9t11t13c-Octadecatriensäure), Eleosterinsäure (9c11t13t-Octadecatriensäure), Jacarinsäure (8c10t12c-Octadecatriensäure), Punicinsäure (9c11t13c-Octadecatriensäure), Parinarinsäure (9c11t13t15c-Octadecatetraensäure), Pinolensäure (all-cis-5,9,12-Octadecatriensäure), Laballensäure (5,6-Octadecadienallensäure), Ricinolsäure (12-Hydroxyölsäure) und/oder Coriolinsäure (13-Hydroxy-9c,11t-Octadecadienonsäure). Die vorgenannten Fettsäuren kommen in den nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fettsäuregemischen in der Regel vorteilhaft nur in Spuren vor, das heißt sie kommen bezogen auf die Gesamtfettsäuren zu weniger als 30 %, bevorzugt zu weniger als 25 %, 24 %, 23 %, 22 % oder 21 %, besonders bevorzugt zu weniger als 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 % oder 5 %, ganz besonders bevorzugt zu weniger als 4 %, 3 %, 2 % oder 1 % vor. In einer weiteren bevorzugten Form der Erfindung kommen diese vorgenannten Fettsäuren bezogen auf die Gesamtfettsäuren zu weniger als 0,9%; 0,8%; 0,7%; 0,6%; oder 0,5%, besonders bevorzugt zu weniger als 0,4%; 0,3%; 0,2%; 0,1% vor. Vorteilhaft enthalten die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische weniger als 0,1 % bezogen auf die Gesamtfettsäuren und/oder keine Buttersäure, kein Cholesterin, keine Clupanodonsäure (= Docosapentaensäure, C22:5<sup>Δ4,8,12,15,21</sup>) sowie keine Nisinsäure (Tetracosahexaensäure, C23:6<sup>Δ3,8,12,15,18,21</sup>).

- Durch die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen bzw. im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen kann eine Steigerung der Ausbeute an mehrfach ungesättigten Fettsäuren von mindestens 50 %, vorteilhaft von mindestens 80 %, besonders vorteilhaft von mindestens 100 %, ganz besonders vorteilhaft von mindestens 150 % gegenüber den nicht transgenen Ausgangsorganismus beispielsweise einer Hefe, einer Alge, einem Pilz oder einer Pflanze wie Arabidopsis oder Lein beim Vergleich in der GC-Analyse siehe Beispiele erreicht werden.

- Auch chemisch reine mehrfach ungesättigte Fettsäuren oder Fettsäurezusammensetzungen sind nach den vorbeschriebenen Verfahren darstellbar. Dazu werden die Fettsäuren oder die Fettsäurezusammensetzungen aus dem Organismus wie den Mikroorganismen oder den Pflanzen oder dem Kulturmedium, in dem oder auf dem die Organismen angezogen wurden, oder aus dem Organismus und dem Kulturmedium in

bekannter Weise beispielsweise über Extraktion, Destillation, Kristallisation, Chromatographie oder Kombinationen dieser Methoden isoliert. Diese chemisch reinen Fettsäuren oder Fettsäurezusammensetzungen sind für Anwendungen im Bereich der Lebensmittelindustrie, der Kosmetikindustrie und besonders der Pharmaindustrie vorteilhaft.

Als Organismus für die Herstellung im erfindungsgemäßen Verfahren kommen prinzipiell alle Organismen wie Mikroorganismen, nicht-humane Tiere oder Pflanzen in Frage.

Als Pflanzen kommen prinzipiell alle Pflanzen in Frage, die in der Lage sind Fettsäuren zu synthetisieren wie alle dicotylen oder monokotylen Pflanzen, Algen oder Moose. Vorteilhaft Pflanzen sind ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzenfamilien Adelotheceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Betulaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Caricaceae, Cannabaceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae, Crypthocodiniaceae, Cucurbitaceae, Ditrachaceae, Elaeagnaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Gramineae, Juglandaceae, Lauraceae, Leguminosae, Linaceae, Euglenaceae, Prasinophyceae oder Gemüsepflanzen oder Zierpflanzen wie Tagetes in Betracht.

Beispielhaft seien die folgenden Pflanzen genannt ausgewählt aus der Gruppe: Adelotheceae wie die Gattungen *Physcomitrella* z.B. die Gattung und Arten *Physcomitrella patens*, Anacardiaceae wie die Gattungen *Pistacia*, *Mangifera*, *Anacardium* z.B. die Gattung und Arten *Pistacia vera* [Pistazie], *Mangifer indica* [Mango] oder *Anacardium occidentale* [Cashew], Asteraceae wie die Gattungen *Calendula*, *Carthamus*, *Centaurea*, *Cichorium*, *Cynara*, *Helianthus*, *Lactuca*, *Locusta*, *Tagetes*, *Valeriana* z.B. die Gattung und Arten *Calendula officinalis* [Garten-Ringelblume], *Carthamus tinctorius* [Färberdistel, safflower], *Centaurea cyanus* [Kornblume], *Cichorium intybus* [Wegwarte], *Cynara scolymus* [Artichoke], *Helianthus annuus* [Sonnenblume], *Lactuca sativa*, *Lactuca crispera*, *Lactuca esculenta*, *Lactuca scariola* L. ssp. *sativa*, *Lactuca scariola* L. var. *integrata*, *Lactuca scariola* L. var. *integrifolia*, *Lactuca sativa* subsp. *romana*, *Locusta communis*, *Valeriana locusta* [Salat], *Tagetes lucida*, *Tagetes erecta* oder *Tagetes tenuifolia* [Studentenblume], Apiaceae wie die Gattung *Daucus* z.B. die Gattung und Art *Daucus carota* [Karotte], Betulaceae wie die Gattung *Corylus* z.B. die Gattungen und Arten *Corylus avellana* oder *Corylus colurna* [Haselnuss], Boraginaceae wie die Gattung *Borago* z.B. die Gattung und Art *Borago officinalis* [Borretsch], Brassicaceae wie die Gattungen *Brassica*, *Camelina*, *Melanosinapis*, *Sinapis*, *Arabidopsis* z.B. die Gattungen und Arten *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [Raps], *Sinapis arvensis*, *Brassica juncea*, *Brassica juncea* var. *juncea*, *Brassica juncea* var. *crispifolia*, *Brassica juncea* var. *foliosa*, *Brassica nigra*, *Brassica sinapioides*, *Camelina sativa*, *Melanosinapis communis* [Senf], *Brassica oleracea* [Futterrübe] oder *Arabidopsis thaliana*, Bromeliaceae wie die Gattungen *Anana*, *Bromelia* (Ananas) z.B. die Gattungen und Arten *Anana comosus*, *Ananas ananas* oder *Bromelia comosa* [Ananas], Caricaceae wie die Gattung *Carica* wie die Gattung und Art *Carica papaya* [Papaya], Cannabaceae wie die Gattung *Cannabis* wie die Gattung und Art *Cannabis*

- sative [Hanf], Convolvulaceae wie die Gattungen *Ipomea*, *Convolvulus* z.B. die Gattungen und Arten *Ipomoea batatas*, *Ipomoea pandurata*, *Convolvulus batatas*, *Convolvulus tiliaceus*, *Ipomoea fastigiata*, *Ipomoea tiliacea*, *Ipomoea triloba* oder *Convolvulus panduratus* [Süßkartoffel, Batate], Chenopodiaceae wie die Gattung Beta wie die Gattungen und Arten *Beta vulgaris*, *Beta vulgaris* var. *altissima*, *Beta vulgaris* var. *Vulgaris*, *Beta maritima*, *Beta vulgaris* var. *perennis*, *Beta vulgaris* var. *conditiva* oder *Beta vulgaris* var. *esculenta* [Zuckerrübe], Crypthecodiniaceae wie die Gattung *Crypthecodinium* z.B. die Gattung und Art *Crypthecodinium cohnii*, Cucurbitaceae wie die Gattung *Cucurbita* z.B. die Gattungen und Arten *Cucurbita maxima*, *Cucurbita mixta*, *Cucurbita pepo* oder *Cucurbita moschata* [Kürbis], Cymbellaceae wie die Gattungen *Amphora*, *Cymbella*, *Okedenia*, *Phaeodactylum*, *Reimeria* z.B. die Gattung und Art *Phaeodactylum tricornutum*, Ditrichaceae wie die Gattungen *Ditrichaceae*, *Astomiopsis*, *Ceratodon*, *Chrysoblastella*, *Ditrichum*, *Distichium*, *Eccremidium*, *Lophidion*, *Philibertiella*, *Pleuridium*, *Saelania*, *Trichodon*, *Skottsbergia* z.B. die Gattungen und Arten *Ceratodon antarcticus*, *Ceratodon columbiae*, *Ceratodon heterophyllus*, *Ceratodon purpurascens*, *Ceratodon purpureus*, *Ceratodon purpureus* ssp. *convolutus*, *Ceratodon purpureus* ssp. *stenocarpus*, *Ceratodon purpureus* var. *rotundifolius*, *Ceratodon ratodon*, *Ceratodon stenocarpus*, *Chrysoblastella chilensis*, *Ditrichum ambiguum*, *Ditrichum brevisetum*, *Ditrichum crispatisimum*, *Ditrichum difficile*, *Ditrichum falcifolium*, *Ditrichum flexicaule*, *Ditrichum giganteum*, *Ditrichum heteromallum*, *Ditrichum lineare*, *Ditrichum lineare*, *Ditrichum montanum*, *Ditrichum montanum*, *Ditrichum pallidum*, *Ditrichum punctulatum*, *Ditrichum pusillum*, *Ditrichum pusillum* var. *tortile*, *Ditrichum rhynchostegium*, *Ditrichum schimperi*, *Ditrichum tortile*, *Distichium capillaceum*, *Distichium hagenii*, *Distichium inclinatum*, *Distichium macounii*, *Eccremidium floridanum*, *Eccremidium whiteleggei*, *Lophidion strictus*, *Pleuridium acuminatum*, *Pleuridium alternifolium*, *Pleuridium holdridgei*, *Pleuridium mexicanum*, *Pleuridium ravenelii*, *Pleuridium subulatum*, *Saelania glaucescens*, *Trichodon borealis*, *Trichodon cylindricus* oder *Trichodon cylindricus* var. *oblongus*, Elaeagnaceae wie die Gattung *Elaeagnus* z.B. die Gattung und Art *Olea europaea* [Olive], Ericaceae wie die Gattung *Kalmia* z.B. die Gattungen und Arten *Kalmia latifolia*, *Kalmia angustifolia*, *Kalmia microphylla*, *Kalmia polifolia*, *Kalmia occidentalis*, *Cistus chamaerhodendros* oder *Kalmia lucida* [Berglorbeer], Euglenaceae wie die Gattungen *Ascoglena*, *Astasia*, *Colacium*, *Cyclidiopsis*, *Euglena*, *Euglenopsis*, *Hyalaphacus*, *Khawkinea*, *Lepocinclis*, *Phacus*, *Strombomonas*, *Trachelomonas* z.B. die Gattung und Art *Euglena gracilis*; Euphorbiaceae wie die Gattungen *Manihot*, *Janipha*, *Jatropha*, *Ricinus* z.B. die Gattungen und Arten *Manihot utilissima*, *Janipha manihot*, *Jatropha manihot*, *Manihot aipil*, *Manihot dulcis*, *Manihot manihot*, *Manihot melanobasis*, *Manihot esculenta* [Manihot] oder *Ricinus communis* [Rizinus], Fabaceae wie die Gattungen *Pisum*, *Albizia*, *Cathormion*, *Feuillea*, *Inga*, *Pithecolobium*, *Acacia*, *Mimosa*, *Medicago*, *Glycine*, *Dolichos*, *Phaseolus*, *Soja* z.B. die Gattungen und Arten *Pisum sativum*, *Pisum arvense*, *Pisum humile* [Erbse], *Albizia berteriana*, *Albizia julibrissin*, *Albizia lebbeck*, *Acacia berteriana*, *Acacia littoralis*, *Albizia berteriana*, *Albizia berteriana*, *Cathormion berteriana*, *Feuillea berteriana*, *Inga fragrans*, *Pithecolobium berterianum*, *Pithecellobium fragrans*, *Pithecolobium berterianum*, *Pseudalbizia berteriana*, *Acacia julibrissin*, *Acacia nemu*, *Albizia nemu*, *Feuillea julibrissin*, *Mimosa julibrissin*, *Mimosa speciosa*,

- Sericanrda julibrissin*, *Acacia lebbeck*, *Acacia macrophylla*, *Albizia lebbeck*, *Feuilleea lebbeck*, *Mimosa lebbeck*, *Mimosa speciosa* [Seidenbaum], *Medicago sativa*, *Medicago falcata*, *Medicago varia* [Alfalfa] *Glycine max* *Dolichos soja*, *Glycine gracilis*, *Glycine hispida*, *Phaseolus max*, *Soja hispida* oder *Soja max* [Sojabohne], Funariaceae wie die Gattungen *Aphanorrhagma*, *Entosthodon*, *Funaria*, *Physcomitrella*, *Physcomitrium* z.B. die Gattungen und Arten *Aphanorrhagma serratum*, *Entosthodon attenuatus*, *Entosthodon bolanderi*, *Entosthodon bonplandii*, *Entosthodon californicus*, *Entosthodon drummondii*, *Entosthodon jamesonii*, *Entosthodon leibergii*, *Entosthodon neoscoticus*, *Entosthodon rubrissetus*, *Entosthodon spathulifolius*, *Entosthodon tucsoni*, *Funaria americana*, *Funaria bolanderi*, *Funaria calcarea*, *Funaria californica*, *Funaria calvescens*, *Funaria convoluta*, *Funaria flavicans*, *Funaria groutiana*, *Funaria hygrometrica*, *Funaria hygrometrica* var. *arctica*, *Funaria hygrometrica* var. *calvescens*, *Funaria hygrometrica* var. *convoluta*, *Funaria hygrometrica* var. *muralis*, *Funaria hygrometrica* var. *utahensis*, *Funaria microstoma*, *Funaria microstoma* var. *obtusifolia*, *Funaria muhlenbergii*, *Funaria orcuttii*, *Funaria plano-convexa*, *Funaria polaris*, *Funaria ravenelii*, *Funaria rubrisseta*, *Funaria serrata*, *Funaria sonora*, *Funaria sublimbatum*, *Funaria tucsoni*, *Physcomitrella californica*, *Physcomitrella patens*, *Physcomitrella readeri*, *Physcomitrium australe*, *Physcomitrium californicum*, *Physcomitrium collenchymatum*, *Physcomitrium coloradense*, *Physcomitrium cupuliferum*, *Physcomitrium drummondii*, *Physcomitrium eurystomum*, *Physcomitrium flexifolium*, *Physcomitrium hookeri*, *Physcomitrium hookeri* var. *serratum*, *Physcomitrium immersum*, *Physcomitrium kellermanii*, *Physcomitrium megalocarpum*, *Physcomitrium pyriforme*, *Physcomitrium pyriforme* var. *serratum*, *Physcomitrium rufipes*, *Physcomitrium sandbergii*, *Physcomitrium subsphaericum*, *Physcomitrium washingtoniense*, Geraniaceae wie die Gattungen *Pelargonium*, *Cocos*, *Oleum* z.B. die Gattungen und Arten *Cocos nucifera*, *Pelargonium grossularioides* oder *Oleum cocois* [Kokusnuss], Gramineae wie die Gattung *Saccharum* z.B. die Gattung und Art *Saccharum officinarum*, Juglandaceae wie die Gattungen *Juglans*, *Wallia* z.B. die Gattungen und Arten *Juglans regia*, *Juglans ailanthifolia*, *Juglans sieboldiana*, *Juglans cinerea*, *Wallia cinerea*, *Juglans bixbyi*, *Juglans californica*, *Juglans hindsii*, *Juglans intermedia*, *Juglans jamaicensis*, *Juglans major*, *Juglans microcarpa*, *Juglans nigra* oder *Wallia nigra* [Walnuss], Lauraceae Wie die Gattungen *Persea*, *Laurus* z.B. die Gattungen und Arten *Laurus nobilis* [Lorbeer], *Persea americana*, *Persea gratissima* oder *Persea persea* [Avocado], Leguminosae wie die Gattung *Arachis* z.B. die Gattung und Art *Arachis hypogaea* [Erdnuss], Linaceae wie die Gattungen *Linum*, *Adenolinum* z.B. die Gattungen und Arten *Linum usitatissimum*, *Linum humile*, *Linum austriacum*, *Linum bienne*, *Linum angustifolium*, *Linum catharticum*, *Linum flavum*, *Linum grandiflorum*, *Adenolinum grandiflorum*, *Linum lewisii*, *Linum narbonense*, *Linum perenne*, *Linum perenne* var. *lewisii*, *Linum pratense* oder *Linum trigynum* [Lein], Lythrarieae wie die Gattung *Punica* z.B. die Gattung und Art *Punica granatum* [Granatapfel], Malvaceae wie die Gattung *Gossypium* z.B. die Gattungen und Arten *Gossypium hirsutum*, *Gossypium arboreum*, *Gossypium barbadense*, *Gossypium herbaceum* oder *Gossypium thurberi* [Baumwolle], Marchantiaceae wie die Gattung *Marchantia* z.B. die Gattungen und Arten *Marchantia berteriana*, *Marchantia foliacea*, *Marchantia macropora*, Musaceae wie die Gattung *Musa* z.B. die Gattungen und Arten *Musa nana*, *Musa acuminata*, *Musa paradisiaca*,



- Musa* spp. [Banane], Onagraceae wie die Gattungen *Camissonia*, *Oenothera* z.B. die Gattungen und Arten *Oenothera biennis* oder *Camissonia brevipes* [Nachtkerze], Palmae wie die Gattung *Elacis* z.B. die Gattung und Art *Elaeis guineensis* [Ölpalme], Papaveraceae wie die Gattung *Papaver* z.B. die Gattungen und Arten *Papaver orientale*, *Papaver rhoeas*, *Papaver dubium* [Mohn], Pedaliaceae wie die Gattung ..
- 5 *Sesamum* z.B. die Gattung und Art *Sesamum indicum* [Sesam], Piperaceae wie die Gattungen *Piper*, *Artanthe*, *Peperomia*, *Steffensia* z.B. die Gattungen und Arten *Piper aduncum*, *Piper amalago*, *Piper angustifolium*, *Piper auritum*, *Piper betel*, *Piper cubeba*, *Piper longum*, *Piper nigrum*, *Piper retrofractum*, *Artanthe adunca*, *Artanthe elongata*, *Peperomia elongata*, *Piper elongatum*, *Steffensia elongata*. [Cayennepfeffer],
- 10 Poaceae wie die Gattungen *Hordeum*, *Secale*, *Avena*, *Sorghum*, *Andropogon*, *Holcus*, *Panicum*, *Oryza*, *Zea* (Mais), *Triticum* z.B. die Gattungen und Arten *Hordeum vulgare*, *Hordeum jubatum*, *Hordeum murinum*, *Hordeum secalinum*, *Hordeum distichon*, *Hordeum aegiceras*, *Hordeum hexastichon*., *Hordeum hexastichum*, *Hordeum irregulare*, *Hordeum sativum*, *Hordeum secalinum* [Gerste], *Secale cereale* [Roggen], *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida* [Hafer], *Sorghum bicolor*, *Sorghum halepense*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum vulgare*, *Andropogon drummondii*, *Holcus bicolor*, *Holcus sorghum*, *Sorghum aethiopicum*, *Sorghum arundinaceum*, *Sorghum caffrorum*, *Sorghum cernuum*, *Sorghum dochna*, *Sorghum drummondii*, *Sorghum durra*, *Sorghum guineense*, *Sorghum lanceolatum*, *Sorghum nervosum*, *Sorghum saccharatum*, *Sorghum subglabrescens*, *Sorghum verticilliflorum*, *Sorghum vulgare*, *Holcus halepensis*, *Sorghum miliaceum*, *Panicum militaceum* [Hirse], *Oryza sativa*, *Oryza latifolia* [Reis], *Zea mays* [Mais]
- 20 *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum* oder *Triticum vulgare* [Weizen], Porphyridiaceae wie die Gattungen *Chrootheca*, *Flintiella*, *Petrovanella*, *Porphyridium*, *Rhodella*, *Rhodorus*, *Vanhoeffenia* z.B. die Gattung und Art *Porphyridium cruentum*, Proteaceae wie die Gattung *Macadamia* z.B. die Gattung und Art *Macadamia intergrifolia* [Macadamia], Prasinophyceae wie die Gattungen *Nephroselmis*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*,
- 30 *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus* z.B. die Gattungen und Arten *Nephroselmis olivacea*, *Prasinococcus capsulatus*, *Scherffelia dubia*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis suecica*, *Mantoniella squamata*, *Ostreococcus tauri*, Rubiaceae wie die Gattung *Coffea* z.B. die Gattungen und Arten *Coffea* spp., *Coffea arabica*, *Coffea canephora* oder *Coffea liberica* [Kaffee], Scrophulariaceae wie die Gattung *Verbascum* z.B. die
- 35 Gattungen und Arten *Verbascum blattaria*, *Verbascum chaixii*, *Verbascum densiflorum*, *Verbascum lagurus*, *Verbascum longifolium*, *Verbascum lychnitis*, *Verbascum nigrum*, *Verbascum olympicum*, *Verbascum phlomoides*, *Verbascum phoenicum*, *Verbascum pulverulentum* oder *Verbascum thapsus* [Königskerze], Solanaceae wie die Gattungen *Capsicum*, *Nicotiana*, *Solanum*, *Lycopersicon* z.B. die Gattungen und Arten *Capsicum annuum*, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, *Capsicum frutescens* [Pfeffer],
- 40 *Capsicum annuum* [Paprika], *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana alata*, *Nicotiana attenuata*, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana langsdorffii*, *Nicotiana obtusifolia*, *Nicotiana quadrivalvis*, *Nicotiana repanda*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana sylvestris* [Tabak], *Solanum tuberosum* [Kartoffel], *Solanum melongena* [Aubergine] *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon*
- 45 *lycopersicum*., *Lycopersicon pyriforme*, *Solanum integrifolium* oder *Solanum lycopersi-*

*cum* [Tomate], Sterculiaceae wie die Gattung *Theobroma* z.B. die Gattung und Art *Theobroma cacao* [Kakao] oder Theaceae wie die Gattung *Camellia* z.B. die Gattung und Art *Camellia sinensis* [Tee].

- Vorteilhafte Mikroorganismen sind beispielweise Pilze ausgewählt aus der Gruppe der
- 5 Familien Chaetomiaceae, Choanephoraceae, Cryptococcaceae, Cunninghamellaceae, Dematiaceae, Moniliaceae, Mortierellaceae, Mucoraceae, Pythiaceae, Saccharomycetaceae, Saprolegniaceae, Schizosaccharomycetaceae, Sodariaceae oder Tuberculariaceae.
  - 10 Beispielhaft seien die folgenden Mikroorganismen genannt ausgewählt aus der Gruppe: Choanephoraceae wie den Gattungen *Blakeslea*, *Choanephora* z.B. die Gattungen und Arten *Blakeslea trispora*, *Choanephora cucurbitarum*, *Choanephora infundibulifera* var. *cucurbitarum*, Mortierellaceae wie der Gattung *Mortierella* z.B. die Gattungen und Arten *Mortierella isabellina*, *Mortierella polycephala*, *Mortierella ramanniana*, *Mortierella vinacea*, *Mortierella zonata*, Pythiaceae wie den Gattungen
  - 15 *Pythium*, *Phytophthora* z.B. die Gattungen und Arten *Pythium debaryanum*, *Pythium intermedium*, *Pythium irregulare*, *Pythium megalacanthum*, *Pythium paroeocandrum*, *Pythium sylvaticum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora erythroseptica*, *Phytophthora lateralis*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora nicotianae* var.
  - 20 *parasitica*, *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora syringae*, Saccharomycetaceae wie den Gattungen *Hansenula*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Yarrowia* z.B. die Gattungen und Arten *Hansenula anomala*, *Hansenula californica*, *Hansenula canadensis*, *Hansenula capsulata*, *Hansenula ciferrii*, *Hansenula glucozyma*, *Hansenula henricii*, *Hansenula holstii*, *Hansenula*
  - 25 *minuta*, *Hansenula nonfermentans*, *Hansenula philodendri*, *Hansenula polymorpha*, *Hansenula saturnus*, *Hansenula subpelliculosa*, *Hansenula wickerhamii*, *Hansenula wingei*, *Pichia alcoholophila*, *Pichia angusta*, *Pichia anomala*, *Pichia bispora*, *Pichia burtonii*, *Pichia canadensis*, *Pichia capsulata*, *Pichia carsonii*, *Pichia cellobiosa*, *Pichia ciferrii*, *Pichia farinosa*, *Pichia fermentans*, *Pichia finlandica*, *Pichia glucozyma*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia haplophila*, *Pichia henricii*, *Pichia holstii*, *Pichia jadinii*, *Pichia lindnerii*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia methanolica*, *Pichia minuta* var. *minuta*, *Pichia minuta* var. *nonfermentans*, *Pichia norvegensis*, *Pichia ohmeri*, *Pichia pastoris*, *Pichia philodendri*, *Pichia pini*, *Pichia polymorpha*, *Pichia quercuum*, *Pichia rhodanensis*, *Pichia sargentensis*, *Pichia stipitis*, *Pichia strasburgensis*, *Pichia subpelliculosa*,
  - 35 *Pichia toletana*, *Pichia trehalophila*, *Pichia vini*, *Pichia xylosa*, *Saccharomyces acetii*, *Saccharomyces baillii*, *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces bisporus*, *Saccharomyces capensis*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Saccharomyces chevalieri*, *Saccharomyces delbrueckii*, *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces drosophilae*, *Saccharomyces elegans*, *Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces fermentati*, *Saccharomyces florentinus*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Saccharomyces hienipiensis*, *Saccharomyces inusitatus*, *Saccharomyces italicus*, *Saccharomyces*
  - 40

- kluyveri*, *Saccharomyces krusei*, *Saccharomyces lactis*, *Saccharomyces marxianus*, *Saccharomyces microellipsoides*, *Saccharomyces montanus*, *Saccharomyces norbensis*, *Saccharomyces oleaceus*, *Saccharomyces paradoxus*, *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces pretoriensis*, *Saccharomyces rosei*, *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Yarrowia lipolytica*,  
 5 Schizosaccharomycetaceae such as the genera *Schizosaccharomyces* e.g. the species *Schizosaccharomyces japonicus* var. *japonicus*, *Schizosaccharomyces japonicus* var. *versatilis*, *Schizosaccharomyces malidevorans*, *Schizosaccharomyces octosporus*, *Schizosaccharomyces pombe* var. *malidevorans*, *Schizosaccharomyces pombe* var. *pombe*,  
 10 *Thraustochytriaceae* such as the genera *Althornia*, *Aplanochytrium*, *Japono-chytrium*, *Schizochytrium*, *Thraustochytrium* e.g. the species *Schizochytrium aggregatum*, *Schizochytrium limacinum*, *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium minutum*, *Schizochytrium octosporum*, *Thraustochytrium aggregatum*, *Thraustochytrium amoeboides*, *Thraustochytrium antacticum*, *Thraustochytrium arudimentale*, *Thraustochytrium aureum*,  
 15 *Thraustochytrium benthiicola*, *Thraustochytrium globosum*, *Thraustochytrium indicum*, *Thraustochytrium kerguelense*, *Thraustochytrium kinnei*, *Thraustochytrium motivum*, *Thraustochytrium multirudimentale*, *Thraustochytrium pachydermum*, *Thraustochytrium proliferum*, *Thraustochytrium roseum*, *Thraustochytrium rossii*, *Thraustochytrium striatum* oder *Thraustochytrium visurgense*.
- 20 Weitere vorteilhafte Mikroorganismen sind beispielweise Bakterien ausgewählt aus der Gruppe der Familien *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae* oder *Rhizobiaceae*.

- Beispielhaft seien die folgenden Mikroorganismen genannt ausgewählt aus der Gruppe: *Bacillaceae* wie die Gattung *Bacillus* z.B. die Gattungen und Arten *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*,  
 25 *Bacillus amylolyticus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus sphaericus* subsp. *fusiformis*, *Bacillus galactophilus*, *Bacillus globisporus*, *Bacillus globisporus* subsp. *marinus*, *Bacillus halophilus*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus psychrosaccharolyticus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*,  
 30 *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* oder *Bacillus thuringiensis*; *Enterobacteriaceae* wie die Gattungen *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* oder *Serratia* z.B. die Gattungen und Arten *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter genospecies*, *Citrobacter gillenii*, *Citrobacter intermedium*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter murlinae*, *Citrobacter* sp.,  
 35 *Edwardsiella hoshinae*, *Edwardsiella ictaluri*, *Edwardsiella tarda*, *Erwinia alni*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia ananatis*, *Erwinia aphidicola*, *Erwinia billingiae*, *Erwinia cacticida*, *Erwinia cancerogena*, *Erwinia carnegiana*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *betavascularum*, *Erwinia carotovora* subsp. *odorifera*, *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia cypripedii*, *Erwinia dissolvens*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia mallotivora*,  
 40 *Erwinia milletiae*, *Erwinia nigrifluens*, *Erwinia nimipressuralis*, *Erwinia persicina*, *Erwinia psidii*, *Erwinia pyrifoliae*, *Erwinia quercina*, *Erwinia rhapontici*, *Erwinia rubrifaciens*, *Erwinia salicis*, *Erwinia stewartii*, *Erwinia tracheiphila*, *Erwinia uredovora*, *Escherichia*

- adecarboxylata, *Escherichia anindolica*, *Escherichia aurescens*, *Escherichia blattae*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* var. *communior*, *Escherichia coli-mutabile*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia sp.*, *Escherichia vulneris*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella edwardsii* subsp. *atlantae*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *Klebsiella sp.*, *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella trevisanii*, *Salmonella abony*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella bongori*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *arizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *diarizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *houtenae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *indica*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *salamae*, *Salmonella daressalaam*, *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*, *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella heidelberg*, *Salmonella panama*, *Salmonella senftenberg*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia entomophila*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, *Serratia grimesii*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Serratia marcescens* subsp. *marcescens*, *Serratia marinorubra*, *Serratia odorifera*, *Serratia plymuthensis*, *Serratia plymuthica*, *Serratia proteamaculans*, *Serratia proteamaculans* subsp. *quinovora*, *Serratia quinovora* oder *Serratia rubidaea*; Rhizobiaceae wie die Gattungen *Agrobacterium*, *Carbophilus*, *Chelatobacter*, *Ensifer*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* z.B. die Gattungen und Arten *Agrobacterium atlanticum*, *Agrobacterium ferrugineum*, *Agrobacterium gelatinovorum*, *Agrobacterium larrymoorei*, *Agrobacterium meteori*, *Agrobacterium radiobacter*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Agrobacterium rubi*, *Agrobacterium stellulatum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Carbophilus carboxidus*, *Chelatobacter heintzii*, *Ensifer adhaerens*, *Ensifer arboris*, *Ensifer fredii*, *Ensifer kostiensis*, *Ensifer kummerowiae*, *Ensifer medicae*, *Ensifer meliloti*, *Ensifer sahelii*, *Ensifer terangae*, *Ensifer xinjiangensis*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium fredii*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium hainanense*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium huautlense*, *Rhizobium indigoferae*, *Rhizobium japonicum*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium loessense*, *Rhizobium loti*, *Rhizobium lupini*, *Rhizobium mediterraneum*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium mongolense*, *Rhizobium phaseoli*, *Rhizobium radiobacter*, *Rhizobium rhizogenes*, *Rhizobium rubi*, *Rhizobium sullae*, *Rhizobium tianshanense*, *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium undicola*, *Rhizobium vitis*, *Sinorhizobium adhaerens*, *Sinorhizobium arboris*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium kostiense*, *Sinorhizobium kummerowiae*, *Sinorhizobium medicae*, *Sinorhizobium meliloti*, *Sinorhizobium morelense*, *Sinorhizobium sahelii* oder *Sinorhizobium xinjiangense*.

- Weitere vorteilhafte Mikroorganismen für das erfindungsgemäße Verfahren sind beispielweise Protisten oder Diatomeen ausgewählt aus der Gruppe der Familien Dinophyceae, Turaniellidae oder Oxytrichidae wie die Gattungen und Arten: *Cryptocodium cohnii*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Stylonychia mytilus*, *Stylonychia pustulata*, *Stylonychia putrina*, *Stylonychia notophora*, *Stylonychia sp.*, *Colpidium campylum* oder *Colpidium sp.*

Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren transgene Organismen wie Pilze wie *Mortierella* oder *Traustochytrium*, Hefen wie *Saccharomyces* oder *Schizosaccharomyces*, Moose wie *Physcomitrella* oder *Ceratodon*, nicht-humane Tiere wie *Caenorhabditis*, Algen wie *Nephroselmis*, *Pseudoscurfielda*, *Prasinococcus*,  
 5 *Scherffelia*, *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Cryptocodinium* oder *Phaeodactylum* oder Pflanzen wie zweikeimblättrige oder einkeimblättrige Pflanzen verwendet. Besonders vorteilhaft werden Organismen im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet, die zu den Öl-produzierenden Organismen gehören, das heißt die für die Herstellung von Ölen verwendet werden, wie Pilze wie *Mortierella* oder *Thraustochytrium*, Algen wie *Nephroselmis*, *Pseudoscurfielda*, *Prasinococcus*, *Scherffelia*,  
 10 *Tetraselmis*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Cryptocodinium*, *Phaeodactylum* oder Pflanzen, insbesondere Pflanzen bevorzugt Ölfuchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Saflor (*Carthamus tinctoria*), Mohn, Senf, Hanf, Rizinus, Olive, Sesam, Calendula, Punica, Nachtkerze, Königskerze, Distel, Wildrosen, Haselnuss, Mandel, Macadamia, Avocado, Lorbeer, Kürbis, Lein, Soja, Pistazien, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss oder Walnuss) oder Feldfrüchte, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa oder Buschpflanzen (Kaffee,  
 20 Kakao, Tee), *Salix*-Arten sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte. Bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfuchtpflanzen, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Saflor, Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Calendula, Punica, Nachtkerze, Kürbis, Lein, Soja, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss). Besonders bevorzugt sind C18:2- und/oder C18:3-Fettsäure reiche Pflanzen wie Sonnenblume, Färberdistel, Tabak, Königskerze, Sesam, Baumwolle, Kürbis, Mohn, Nachtkerze,  
 25 Walnuss, Lein, Hanf, Distel oder Färberdistel. Ganz besonders bevorzugt sind Pflanzen wie Färberdistel, Sonnenblume, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein oder Hanf.

Für das erfindungsgemäße beschriebene Verfahren ist es vorteilhaft in den Organismus zusätzlich zu den unter Verfahrensschritt (a) bis (d) eingebrachten Nukleinsäuren  
 30 sowie den ggf. eingebrachten Nukleinsäuresequenzen, die für die  $\omega$ -3-Desaturasen codieren, zusätzlich weitere Nukleinsäuren einzubringen, die für Enzyme des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels codieren.

Im Prinzip können alle Gene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels vorteilhaft in Kombination mit der(den) erfinderischen  $\Delta$ -5-Elongase(n),  $\Delta$ -6-Elongase(n) und/oder  
 35  $\omega$ -3-Desaturase(n) [im Sinne dieser Anmeldung soll der Plural den Singular und umgekehrt beinhalten] im Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren verwendet werden vorteilhaft werden Gene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n),  
 40 Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen, Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) in

Kombination mit der  $\Delta$ -5-Elongase,  $\Delta$ -6-Elongase und/oder  $\omega$ -3-Desaturase verwendet. Besonders bevorzugt werden Gene ausgewählt aus der Gruppe der  $\Delta$ -4-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -8-Desaturasen,  $\Delta$ -9-Desaturasen,  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Elongasen oder  $\Delta$ -9-Elongasen in Kombination mit den vorgenannten Genen für die  $\Delta$ -5-Elongase,  $\Delta$ -6-Elongase und/oder  $\omega$ -3-Desaturase verwendet, wobei einzelne Gene oder mehrere Gene in Kombination verwendet werden können.

Die erfindungsgemäßen  $\Delta$ -5-Elongasen haben gegenüber den humanen Elongasen oder Elongasen aus nicht-humanen Tieren wie denen aus *Oncorhynchus*, *Xenopus* oder *Ciona* die vorteilhafte Eigenschaft, dass sie  $C_{22}$ -Fettsäuren nicht zu den entsprechenden  $C_{24}$ -Fettsäuren elongieren. Weiterhin setzen sie vorteilhaft keine Fettsäuren mit einer Doppelbindung in  $\Delta$ -6-Position um, wie sie von den humanen Elongasen oder den Elongasen aus nicht-humanen Tieren umgesetzt werden. Besonders vorteilhafte  $\Delta$ -5-Elongasen setzen bevorzugt nur ungesättigte  $C_{20}$ -Fettsäuren um. Diese vorteilhaften  $\Delta$ -5-Elongasen weisen einige putative Transmembran-Helices (5 – 7) auf. Vorteilhaft werden nur  $C_{20}$ -Fettsäuren mit einer Doppelbindung in  $\Delta$ -5-Position umgesetzt, wobei  $\omega$ -3- $C_{20}$  Fettsäuren bevorzugt werden (EPA). Weiterhin haben sie in einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung die Eigenschaft, dass sie neben der  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität vorteilhaft keine oder nur eine relativ geringe  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität aufweisen. Im Gegensatz dazu weisen die humanen Elongasen oder nicht-humanen Tier-Elongasen eine annähernd gleiche Aktivität gegenüber Fettsäuren mit einer  $\Delta$ -6- oder  $\Delta$ -5-Doppelbindung auf. Diese vorteilhaften Elongasen werden als sogenannte monofunktionelle Elongasen bezeichnet. Die humanen Elongasen oder die nicht-humanen Tierelongasen werden dem gegenüber als multifunktionelle Elongasen bezeichnet, die neben den vorgenannten Substraten auch monounsättigte  $C_{16}$ - und  $C_{18}$ -Fettsäuren beispielsweise mit  $\Delta$ -9- oder  $\Delta$ -11-Doppelbindung umsetzen. Vorteilhaft setzen die monofunktionellen Elongasen in einem Hefefütterungstext, in dem als Substrat EPA den Hefen zugesetzt wurde, mindestens 15 Gew.-% des zugesetzten EPAs zu Docosapentaensäure (DPA,  $C_{22}:5^{\Delta 7,10,13,16,19}$ ), vorteilhaft mindestens 20 Gew.-%, besonders vorteilhaft mindestens 25 Gew.-% um. Wird als Substrat  $\gamma$ -Linolensäure (= GLA,  $C_{18}:3^{\Delta 6,9,12}$ ) gegeben, so wird diese vorteilhaft gar nicht elongiert. Ebenfalls wird auch  $C_{18}:3^{\Delta 5,9,12}$  nicht elongiert. In einer anderen vorteilhaften Ausführungsform werden weniger als 60 Gew.-% des zugesetzten GLA zu Dihomo- $\gamma$ -linolensäure (=  $C_{20}:3^{\Delta 8,11,14}$ ) umgesetzt, vorteilhaft weniger als 55 Gew.-%, bevorzugt weniger als 50 Gew.-%, besonders vorteilhaft weniger als 45 Gew.-%, ganz besonders vorteilhaft weniger als 40 Gew.-%. In einer weiteren ganz bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität wird GLA nicht umgesetzt.

Die Figuren 27 und 28 geben die gemessenen Substratspezifitäten der verschiedenen Elongasen wieder. In Figur 27 sind die Spezifitäten der multifunktionellen Elongasen von *Xenopus laevis* (Fig. 27 A), *Ciona intestinalis* (Fig. 27 B) und *Oncorhynchus mykiss* (Fig. 27 C) wiedergegeben. Alle diese Elongasen setzen ein breites Spektrum an Substraten um. Dies kann im erfindungsgemäßen Verfahren zu Nebenprodukten führen, die durch weitere enzymatische Aktivitäten umgesetzt werden müssen. Diese Enzyme sind deshalb im erfindungsgemäßen Verfahren weniger bevorzugt. Die

- bevorzugten monofunktionellen Elongasen und ihre Substratspezifität werden in Figur 28 wiedergegeben. Figur 28 A zeigt die Spezifität der *Ostreococcus tauri*  $\Delta$ -5-Elongase. Dies setzt nur Fettsäuren mit einer Doppelbindung in  $\Delta$ -5-Position um. Vorteilhaft werden nur C20-Fettsäuren umgesetzt. Eine ähnlich hohe Substratspezifität weist die  $\Delta$ -5-Elongase von *Thalassiosira pseudonana* (Fig. 28. C) auf. Sowohl die  $\Delta$ -6-Elongase von *Ostreococcus tauri* (Fig. 28 B) als auch die von *Thalassiosira pseudonana* (Fig. 28 D) setzen vorteilhaft nur Fettsäuren mit einer Doppelbindung in  $\Delta$ -6-Position um. Vorteilhaft werden nur C18-Fettsäuren umgesetzt. Auch die  $\Delta$ -5-Elongasen aus *Arabidopsis thaliana* und *Euglena gracilis* zeichnen sich durch ihre Spezifität aus.
- 10 Vorteilhafte erfindungsgemäße  $\Delta$ -6-Elongasen zeichnen sich ebenfalls durch eine hohe Spezifität aus, das heißt bevorzugt werden C<sub>18</sub>-Fettsäuren elongiert. Vorteilhaft setzen sie Fettsäuren mit einer Doppelbindung in  $\Delta$ -6-Position um. Besonders vorteilhafte  $\Delta$ -6-Elongasen setzen vorteilhaft C<sub>18</sub>-Fettsäuren mit drei oder vier Doppelbindungen im Molekül um, wobei diese eine Doppelbindung in  $\Delta$ -6-Position enthalten müssen.
- 15 Weiterhin haben sie in einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung die Eigenschaft, dass sie neben der  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität vorteilhaft keine oder nur eine relativ geringe  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität aufweisen. Im Gegensatz dazu weisen die humanen Elongasen oder nicht-humanen Tier-Elongasen eine annähernd gleiche Aktivität gegenüber Fettsäuren mit einer  $\Delta$ -6- oder  $\Delta$ -5-Doppelbindung auf. Diese vorteilhaften
- 20 Elongasen werden als sogenannte monofunktionelle Elongasen bezeichnet. Die humanen Elongasen oder die nicht-humanen Tierelongasen werden, wie oben beschrieben, dem gegenüber als multifunktionelle Elongasen bezeichnet, die neben den vorgenannten Substraten auch monoungesättigte C<sub>16</sub>- und C<sub>18</sub>-Fettsäuren beispielsweise mit  $\Delta$ -9- oder  $\Delta$ -11-Doppelbindung umsetzen. Vorteilhaft setzen die
- 25 monofunktionellen Elongasen in einem Hefefütterungstext, in dem als Substrat EPA den Hefen zugesetzt wurde, mindestens 10 Gew.-% der zugesetzten  $\alpha$ -Linolensäure (= ALA, C18:3 <sup>$\Delta$ 9,12,15</sup>) bzw. mindestens 40 Gew.-% der zugesetzten  $\gamma$ -Linolensäure (= GLA, C18:3 <sup>$\Delta$ 6,9,12</sup>), vorteilhaft mindestens 20 Gew.-% bzw. 50 Gew.-%, besonders vorteilhaft mindestens 25 Gew.-% bzw. 60 Gew.-% um. Besonders vorteilhaft wird
- 30 auch C18:4 <sup>$\Delta$ 6,9,12,15</sup> (Stearidonsäure) elongiert. SDA wird dabei zu mindestens 40 Gew.-%, vorteilhaft zu mindestens 50 Gew.-%, besonders vorteilhaft zu mindestens 60 Gew.-%, ganz besonders vorteilhaft zu mindestens 70 Gew.-% umgesetzt. Besonders vorteilhafte  $\Delta$ -6-Elongasen zeigen keine oder nur eine sehr geringe Aktivität (weniger als 0,1 Gew.-% Umsatz) gegenüber den folgenden Substraten: C18:1 <sup>$\Delta$ 8</sup>, C18:1 <sup>$\Delta$ 9</sup>,
- 35 C18:1 <sup>$\Delta$ 11</sup>, C20:2 <sup>$\Delta$ 11,14</sup>, C20:3 <sup>$\Delta$ 11,14,17</sup>, C20:3 <sup>$\Delta$ 8,11,14</sup>, C20:4 <sup>$\Delta$ 5,8,11,14</sup>, C20:5 <sup>$\Delta$ 5,8,11,14,17</sup> oder C22:4 <sup>$\Delta$ 7,10,13,16</sup>.
- Die Figuren 29 und 30 sowie die Tabelle 18 geben die gemessenen Substratspezifitäten der verschiedenen Elongasen wieder.
- 40 Die erfindungsgemäße  $\omega$ -3-Desaturase hat gegenüber den bekannten  $\omega$ -3-Desaturase die vorteilhafte Eigenschaft, dass sie ein breites Spektrum an  $\omega$ -6-Fettsäuren desaturieren kann, bevorzugt werden C<sub>20</sub>- und C<sub>22</sub>-Fettsäuren wie C<sub>20</sub>:2<sup>-</sup>, C<sub>20</sub>:3<sup>-</sup>, C<sub>20</sub>:4<sup>-</sup>, C<sub>22</sub>:4<sup>-</sup> oder C<sub>22</sub>:5<sup>-</sup>-Fettsäuren desaturiert. Aber auch die kürzeren C<sub>18</sub>-Fettsäuren wie C<sub>18</sub>:2<sup>-</sup>

- oder C<sub>18:3</sub>-Fettsäuren werden vorteilhaft desaturiert. Durch diese Eigenschaften der  $\omega$ -3-Desaturase ist es vorteilhaft möglich das Fettsäurespektrum innerhalb eines Organismus vorteilhaft innerhalb einer Pflanze oder einem Pilz von den  $\omega$ -6-Fettsäuren zu den  $\omega$ -3-Fettsäuren hin zu verschieben. Bevorzugt werden von der erfindungsgemäßen  $\omega$ -3-Desaturase C<sub>20</sub>-Fettsäuren desaturiert. Innerhalb des Organismus werden diese Fettsäuren aus dem vorhandenen Fettsäurepool zu mindestens 10%, 15%, 20%, 25% oder 30% zu den entsprechenden  $\omega$ -3-Fettsäuren umgesetzt. Gegenüber den C<sub>18</sub>-Fettsäuren weist die  $\omega$ -3-Desaturase eine um den Faktor 10 geringere Aktivität auf, das heißt es werden nur ca. 1,5 bis 3% der im Fettsäurepool vorhandenen Fettsäuren zu den entsprechenden  $\omega$ -3-Fettsäuren umgesetzt. Bevorzugtes Substrat der erfindungsgemäßen  $\omega$ -3-Desaturase sind die in Phospholipiden gebundenen  $\omega$ -6-Fettsäuren. Figur 19 zeigt deutlich am Beispiel der Desaturierung von Dihomo- $\gamma$ -linolensäure [C<sub>20:4</sub> <sup>$\Delta$ 8,11,14</sup>], dass die  $\omega$ -3-Desaturase bei der Desaturierung vorteilhaft nicht zwischen an sn1- oder sn2-Position gebundenen Fettsäuren unterscheidet. Sowohl an sn1- oder sn2-Position in den Phospholipide gebundene Fettsäuren werden desaturiert. Weiterhin ist vorteilhaft, dass die  $\omega$ -3-Desaturase eine breite Palette von Phospholipiden wie Phosphatidylcholin (= PC), Phosphatidylinositol (= PIS) oder Phosphatidylethanolamin (= PE) umsetzt. Schließlich lassen sich auch Desaturierungsprodukte in den Neutrallipiden (= NL), das heißt in den Triglyceriden finden.
- Die erfindungsgemäßen  $\Delta$ -4-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen und  $\Delta$ -6-Desaturasen haben gegenüber den bekannten  $\Delta$ -4-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen und  $\Delta$ -6-Desaturasen den Vorteil, dass sie Fettsäuren gebunden an Phospholipide oder CoA-Fettsäureester, vorteilhaft CoA-Fettsäureester umsetzen können.
- Vorteilhaft setzen die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten  $\Delta$ -12-Desaturasen Ölsäure (C<sub>18:1</sub> <sup>$\Delta$ 9</sup>) zu Linolsäure (C<sub>18:2</sub> <sup>$\Delta$ 9,12</sup>) oder C<sub>18:2</sub> <sup>$\Delta$ 6,9</sup> zu C<sub>18:3</sub> <sup>$\Delta$ 6,9,12</sup> (= GLA) um. Vorteilhaft setzen die verwendeten  $\Delta$ -12-Desaturasen Fettsäuren gebunden an Phospholipide oder CoA-Fettsäureester, vorteilhaft gebunden an CoA-Fettsäureester um.
- Durch die enzymatische Aktivität der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongase-,  $\Delta$ -6-Elongase- und/oder  $\omega$ -3-Desaturaseaktivität codieren, vorteilhaft in Kombination mit Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels wie weiteren Polypeptiden mit  $\Delta$ -4-,  $\Delta$ -5-,  $\Delta$ -6-,  $\Delta$ -8-,  $\Delta$ -12-Desaturase- oder  $\Delta$ -5-,  $\Delta$ -6- oder  $\Delta$ -9-Elongaseaktivität codieren, können unterschiedlichste mehrfach ungesättigte Fettsäuren im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt werden. Je nach Auswahl der für das erfindungsgemäße Verfahren verwendeten Organismen wie den vorteilhaften Pflanzen lassen sich Mischungen der verschiedenen mehrfach ungesättigten Fettsäuren oder einzelne mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie EPA oder ARA in freier oder gebundener Form herstellen. Je nachdem welche Fettsäurezusammensetzung in der Ausgangspflanze vorherrscht (C<sub>18:2</sub>- oder C<sub>18:3</sub>-Fettsäuren) entstehen so Fettsäuren, die sich von C<sub>18:2</sub>-Fettsäuren ableiten, wie GLA, DGLA oder ARA oder, die sich von C<sub>18:3</sub>-Fettsäuren ableiten, wie SDA, ETA oder EPA. Liegt in der für das Verfahren



verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur Linolsäure (= LA, C18:2<sup>Δ8,12</sup>) vor, so können als Produkte des Verfahrens nur GLA, DGLA und ARA entstehen, die als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Ist in der im Verfahren verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur α-Linolensäure (= ALA, C18:3<sup>Δ9,12,15</sup>) beispielsweise wie in Lein, so können als Produkte des Verfahrens nur SDA, ETA, EPA und/oder DHA entstehen, die wie oben beschrieben als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Durch Modifikation der Aktivität des an der Synthese beteiligten Enzyms Δ-5-Elongase vorteilhaft in Kombination mit der Δ-4-, Δ-5-, Δ-6-, Δ-12-Desaturase und/oder Δ-6-Elongase, oder der Δ-4-, Δ-5-, Δ-8-, Δ-12-Desaturase, und/oder Δ-9-Elongase lassen sich gezielt in den vorgenannten Organismen vorteilhaft in den vorgenannten Pflanzen nur einzelne Produkte herstellen. Durch die Aktivität der Δ-6-Desaturase und Δ-6-Elongase entstehen beispielsweise GLA und DGLA bzw. SDA und ETA, je nach Ausgangspflanze und ungesättigter Fettsäure. Bevorzugt entstehen DGLA bzw. ETA oder deren Mischungen. Werden die Δ-5-Desaturase, die Δ-5-Elongase und die Δ-4-Desaturase zusätzlich in die Organismen vorteilhaft in die Pflanze eingebracht, so entstehen zusätzlich ARA, EPA und/oder DHA. Dies gilt auch für Organismen in die vorher die Δ-8-Desaturase und Δ-9-Elongase eingebracht wurde. Vorteilhaft werden nur ARA, EPA oder DHA oder deren Mischungen synthetisiert, abhängig von der in im Organismus bzw. in der Pflanze vorliegenden Fettsäure, die als Ausgangssubstanz für die Synthese dient. Da es sich um Biosyntheseketten handelt, liegen die jeweiligen Endprodukte nicht als Reinsubstanzen in den Organismen vor. Es sind immer auch geringe Mengen der Vorläuferverbindungen im Endprodukt enthalten. Diese geringen Mengen betragen weniger als 20 Gew.-%, vorteilhaft weniger als 15 Gew.-%, besonders vorteilhaft weniger als 10 Gew.-%, ganz besonders vorteilhaft weniger als 5, 4, 3, 2 oder 1 Gew.-% bezogen auf das Endprodukt DGLA, ETA oder deren Mischungen bzw. ARA, EPA, DHA oder deren Mischungen vorteilhaft EPA oder DHA oder deren Mischungen.

Das von der erfindungsgemäßen Nukleinsäure kodierte Protein zeigt eine hohe Spezifität für die beiden Vorstufen C18:4<sup>Δ6,9,12,15</sup>- und C20:5<sup>Δ5,8,11,14,17</sup>-Fettsäuren zur Synthese von DHA (Vorstufen und Synthese von DHA siehe Figur 1). Das von SEQ NO: 53 kodierte Protein hat damit eine Spezifität für Δ6- und Δ5-Fettsäuren mit zusätzlich einer ω3-Doppelbindung (Figur 2). Die Δ-5-Elongase hat eine keto-Acyl-CoA-Synthase-Aktivität, die vorteilhaft Fettsäurereste von Acyl-CoA-Estern um 2 Kohlenstoffatome verlängert.

Mittels der Δ-5-Elongase-Gene, der Δ5-Desaturase aus *Phaeodacylum* sowie der Δ4-Desaturase aus *Euglena* konnte die Synthese von DHA in Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) nachgewiesen werden (Figur 3).

Neben der Produktion der Ausgangsfettsäuren für die erfindungsgemäße Δ-5-Elongase, Δ-6-Elongase und/oder ω-3-Desaturase direkt im Organismus können die Fettsäuren auch von außen gefüttert werden. Aus Kostengründen ist die Produktion im Organismus bevorzugt. Bevorzugt Substrate der ω-3-Desaturase sind die Linolsäure (C18:2<sup>Δ9,12</sup>), die γ-Linolensäure (C18:3<sup>Δ6,9,12</sup>), die Eicosadiensäure (C20:2<sup>Δ11,14</sup>), die

Dihomo- $\gamma$ -linolensäure (C20:3 <sup>$\Delta$ 8,11,14</sup>), die Arachidonsäure (C20:4 <sup>$\Delta$ 5,8,11,14</sup>), die Docosapentaensäure (C22:5 <sup>$\Delta$ 4,7,10,13,15</sup>) und die Docosapentaensäure (C22:5 <sup>$\Delta$ 7,10,13,16</sup>).

Zur Steigerung der Ausbeute im beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Ölen und/oder Triglyceriden mit einem vorteilhaft erhöhten Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist es vorteilhaft die Menge an Ausgangsprodukt für die Fettsäuresynthese zu steigern, dies kann beispielsweise durch das Einbringen einer Nukleinsäure in den Organismus, die für ein Polypeptid mit  $\Delta$ -12-Desaturase codiert, erreicht werden. Dies ist besonders vorteilhaft in Öl-produzierenden Organismen wie der Familie der Brassicaceae wie der Gattung Brassica z.B. Raps; der Familie der Elaeagnaceae wie der Gattung Elaeagnus z.B. die Gattung und Art *Olea europaea* oder der Familie Fabaceae wie der Gattung Glycine z.B. die Gattung und Art *Glycine max*, die einen hohen Ölsäuregehalt aufweisen. Da diese Organismen nur einen geringen Gehalt an Linolsäure aufweisen (Mikoklajczak et al., Journal of the American Oil Chemical Society, 38, 1961, 678 - 681) ist die Verwendung der genannten  $\Delta$ -12-Desaturasen zur Herstellung des Ausgangsprodukts Linolsäure vorteilhaft.

Im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren stammen vorteilhaft aus Pflanzen wie Algen beispielsweise Algen der Familie der Prasinophyceae wie aus den Gattungen Heteromastix, Mammella, Mantoniella, Micromonas, Nephroselmis, Ostreococcus, Prasinocladus, Prasinococcus, Pseudoscourfielda, Pycnococcus, Pyramimonas, Scherffelia oder Tetraselmis wie den Gattungen und Arten Heteromastix longifillus, Mamiella gilva, Mantoniella squamata, Micromonas pusilla, Nephroselmis olivacea, Nephroselmis pyriformis, Nephroselmis rotunda, Ostreococcus tauri, Ostreococcus sp. Prasinocladus ascus, Prasinocladus lubricus, Pycnococcus provasolii, Pyramimonas amylifera, Pyramimonas disomata, Pyramimonas obovata, Pyramimonas orientalis, Pyramimonas parkeae, Pyramimonas spinifera, Pyramimonas sp., Tetraselmis apiculata, Tetraselmis carteriformis, Tetraselmis chui, Tetraselmis convolutae, Tetraselmis desikacharyi, Tetraselmis gracilis, Tetraselmis hazeni, Tetraselmis impellucida, Tetraselmis inconspicua, Tetraselmis levis, Tetraselmis maculata, Tetraselmis marina, Tetraselmis striata, Tetraselmis subcordiformis, Tetraselmis suecica, Tetraselmis tetrabrachia, Tetraselmis tetrathele, Tetraselmis verrucosa, Tetraselmis verrucosa fo. rubens oder Tetraselmis sp. oder aus Algen der Familie Euglenaceae wie aus den Gattungen Ascoglena, Astasia, Colacium, Cyclidiopsis, Euglena, Euglenopsis, Hyalophacus, Khawkinea, Lepocinclis, Phacus, Strombomonas oder Trachelomonas wie die Gattungen und Art Euglena acus, Euglena geniculata, Euglena gracilis, Euglena mixocylindracea, Euglena rostrifera, Euglena viridis, Colacium stentorium, Trachelomonas cylindrica oder Trachelomonas volvocina. Vorteilhaft stammen die verwendeten Nukleinsäuren aus Algen der Gattungen Euglena, Mantoniella oder Ostreococcus.

Weitere vorteilhafte Pflanzen sind Algen wie Isochrysis oder Crypthecodinium, Algen/Diatomeen wie Thalassiosira oder Phaeodactylum, Moose wie Physcomitrella o-

der *Ceratodon* oder höheren Pflanzen wie den *Primulaceae* wie *Aleuritia*, *Calendula stellata*, *Osteospermum spinescens* oder *Osteospermum hyoseroides*, Mikroorganismen wie Pilzen wie *Aspergillus*, *Thraustochytrium*, *Phytophthora*, *Entomophthora*, *Mucor* oder *Mortierella*, Bakterien wie *Shewanella*, Hefen oder Tieren wie Nematoden wie *Caenorhabditis*, Insekten, Fröschen, Seegurken oder Fischen. Vorteilhaft stammen die erfindungsgemäßen isolierten Nukleinsäuresequenzen aus einem Tier aus der Ordnung der Vertebraten. Bevorzugt stammen die Nukleinsäuresequenzen aus der Klasse der Vertebrata; Euteleostomi, Actinopterygii; Neopterygii; Teleostei; Euteleostei, Protacanthopterygii, Salmoniformes; Salmonidae bzw. *Oncorhynchus* oder Vertebrata, Amphibia, Anura, Pipidae, *Xenopus* oder Evertabrata wie Protochordata, Tunicata, Holothuroidea, Cionidae wie *Amaroucium constellatum*, *Botryllus schlosseri*, *Ciona intestinalis*, *Molgula citrina*, *Molgula manhattensis*, *Perophora viridis* oder *Styela partita*. Besonders vorteilhaft stammen die Nukleinsäuren aus Pilzen, Tieren oder aus Pflanzen wie Algen oder Moosen, bevorzugt aus der Ordnung der Salmoniformes wie der Familie der Salmonidae wie der Gattung *Salmo* beispielsweise aus den Gattungen und Arten *Oncorhynchus mykiss*, *Trutta trutta* oder *Salmo trutta fario*, aus Algen wie den Gattungen *Mantoniella* oder *Ostreococcus* oder aus den Diatomeen wie den Gattungen *Thalassiosira* oder *Phaeodactylum* oder aus Algen wie *Cryptocodinium*.

Vorteilhaft werden im erfindungsgemäßen Verfahren die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen oder deren Derivat oder Homologe, die für Polypeptide codieren, die noch die enzymatische Aktivität der durch Nukleinsäuresequenzen codierten Proteine besitzen. Diese Sequenzen werden einzeln oder in Kombination mit den für die  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase,  $\Delta$ -6-Elongase und/oder  $\omega$ -3-Desaturase codierenden Nukleinsäuresequenzen in Expressionskonstrukte cloniert und zum Einbringen und zur Expression in Organismen verwendet. Diese Expressionskonstrukte ermöglichen durch ihre Konstruktion eine vorteilhafte optimale Synthese der im erfindungsgemäßen Verfahren produzierten mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens einer Zelle oder eines ganzen Organismus, der die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen enthält, wobei die Zelle und/oder der Organismus mit einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz, die für die  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase,  $\Delta$ -6-Elongase und/oder  $\omega$ -3-Desaturase codiert, einem Genkonstrukt oder einem Vektor wie nachfolgend beschrieben, allein oder in Kombination mit weiteren Nukleinsäuresequenzen, die für Proteine des Fettsäure- oder Lipidsstoffwechsels codieren, transformiert wird. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst dieses Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens der Öle, Lipide oder freien Fettsäuren aus dem Organismus oder aus der Kultur. Bei der Kultur kann es sich beispielsweise um eine Fermentationskultur beispielsweise im Falle der Kultivierung von Mikroorganismen wie z.B. *Mortierella*, *Thalassiosira*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Saccharomyces* oder *Thraustochytrium* oder

um eine Treibhaus oder Feldkultur einer Pflanze handeln. Die so hergestellte Zelle oder der so hergestellte Organismus ist vorteilhaft eine Zelle eines Öl-produzierenden Organismus wie einer Ölfruchtpflanze wie beispielsweise Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Hanf, Erdnuss, Soja, Safflower, Hanf, Sonnenblumen oder Borretsch.

- 5 Unter Anzucht ist beispielsweise die Kultivierung im Falle von Pflanzenzellen, -gewebe oder -organe auf oder in einem Nährmedium oder der ganzen Pflanze auf bzw. in einem Substrat beispielsweise in Hydrokultur, Blumentopferde oder auf einem Ackerboden zu verstehen.

- 10 "Transgen" bzw. "Rekombinant" im Sinne der Erfindung bedeutet bezüglich zum Beispiel einer Nukleinsäuresequenz, einer Expressionskassette (= Genkonstrukt) oder einem Vektor enthaltend die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz oder einem Organismus transformiert mit den erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Expressionskassette oder Vektor alle solche durch gentechnische Methoden zustande gekommenen Konstruktionen, in denen sich entweder

- 15 a) die erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenz, oder  
b) eine mit der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz funktionell verknüpfte genetische Kontrollsequenz, zum Beispiel ein Promotor, oder  
c) (a) und (b)

- 20 sich nicht in ihrer natürlichen, genetischen Umgebung befinden oder durch gentechnische Methoden modifiziert wurden, wobei die Modifikation beispielhaft eine Substitution, Addition, Deletion, Inversion oder Insertion eines oder mehrerer Nukleotidreste sein kann. Natürliche genetische Umgebung meint den natürlichen genomischen bzw. chromosomalen Locus in dem Herkunftsorganismus oder das Vorliegen in einer genomischen Bibliothek. Im Fall einer genomischen Bibliothek ist die natürliche, 25 genetische Umgebung der Nukleinsäuresequenz bevorzugt zumindest noch teilweise erhalten. Die Umgebung flankiert die Nukleinsäuresequenz zumindest an einer Seite und hat eine Sequenzlänge von mindestens 50 bp, bevorzugt mindestens 500 bp, besonders bevorzugt mindestens 1000 bp, ganz besonders bevorzugt mindestens 5000 bp. Eine natürlich vorkommende Expressionskassette - beispielsweise die 30 natürlich vorkommende Kombination des natürlichen Promotors der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen mit den entsprechenden  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Elongase- und/oder  $\Delta$ -5-Elongasegenen - wird zu einer transgenen Expressionskassette, wenn diese durch nicht-natürliche, synthetische ("künstliche") Verfahren wie beispielsweise einer Mutagenisierung geändert wird. Entsprechende Verfahren sind beispielsweise beschrieben in US 5,565,350 oder 35 WO 00/15815.

Unter transgenen Organismus bzw. transgener Pflanze im Sinne der Erfindung ist wie vorgenannt zu verstehen, dass die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren nicht an

ihrer natürlichen Stelle im Genom eines Organismus sind, dabei können die Nukleinsäuren homolog oder heterolog exprimiert werden. Transgen bedeutet aber auch wie genannt, dass die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an ihrem natürlichen Platz im Genom eines Organismus sind, dass jedoch die Sequenz gegenüber der natürlichen  
5 Sequenz verändert wurde und/oder dass die Regulationssequenzen, der natürlichen Sequenzen verändert wurden. Bevorzugt ist unter transgen die Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an nicht natürlicher Stelle im Genom zu verstehen, das heißt eine homologe oder bevorzugt heterologe Expression der Nukleinsäuren liegt vor. Bevorzugte transgene Organismen sind Pilze wie *Mortierella* oder *Phytophthora*,  
10 Moose wie *Physcomitrella*, Algen wie *Mantoniella*, *Euglena*, *Cryptocodinium* oder *Ostreococcus*, Diatomeen wie *Thalassiosira* oder *Phaeodactylum* oder Pflanzen wie die Ölfuchtpflanzen.

Als Organismen bzw. Wirtsorganismen für die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die Expressionskassette oder den Vektor eignen sich  
15 prinzipiell vorteilhaft alle Organismen, die in der Lage sind Fettsäuren speziell ungesättigte Fettsäuren zu synthetisieren bzw. für die Expression rekombinanter Gene geeignet sind. Beispielsweise seien Pflanzen wie *Arabidopsis*, *Asteraceae* wie *Calendula* oder Kulturpflanzen wie Soja, Erdnuss, Rizinus, Sonnenblume, Mais, Baumwolle, Flachs, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, FärberSaffor (*Carthamus tinctorius*) oder Kakaobohne, Mikroorganismen wie Pilze beispielsweise die Gattung *Mortierella*, *Thraustochytrium*, *Saprolegnia*, *Phytophthora* oder *Pythium*, Bakterien wie die Gattung *Escherichia* oder *Shewanella*, Hefen wie die Gattung *Saccharomyces*, Cyanobakterien, Ciliaten, Algen wie *Mantoniella*, *Euglena*, *Thalassiosira* oder *Ostreococcus* oder  
20 Protozoen wie Dinoflagellaten wie *Cryptocodinium* genannt. Bevorzugt werden Organismen, die natürlicherweise Öle in größeren Mengen synthetisieren können wie Pilze wie *Mortierella alpina*, *Pythium insidiosum*, *Phytophthora infestans* oder Pflanzen wie Soja, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, FärberSaffor, Flachs, Hanf, Rizinus, *Calendula*, Erdnuss, Kakaobohne oder Sonnenblume oder Hefen wie *Saccharomyces cerevisiae*, besonders bevorzugt werden Soja, Flachs, Raps, FärberSaffor, Sonnenblume,  
25 *Calendula*, *Mortierella* oder *Saccharomyces cerevisiae*. Prinzipiell sind als Wirtsorganismen neben den vorgenannten transgenen Organismen auch transgene Tiere vorteilhaft nicht-humane Tiere geeignet beispielsweise *C. elegans*, *Ciona intestinalis* oder *Xenopus laevis*.

Nutzbare Wirtszellen sind weiterhin genannt in: Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990).  
35

Verwendbare Expressionsstämme z.B. solche, die eine geringere Proteaseaktivität aufweisen sind beschrieben in: Gottesman, S., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, California (1990) 119-128.

Hierzu gehören Pflanzenzellen und bestimmte Gewebe, Organe und Teile von  
40 Pflanzen in all ihren Erscheinungsformen, wie Antheren, Fasern, Wurzelhaare, Stängel, Embryos, Kalli, Kolydonen, Petiolen, Erntematerial, pflanzliches Gewebe,

reproduktives Gewebe und Zellkulturen, das von der eigentlichen transgenen Pflanze abgeleitet ist und/oder dazu verwendet werden kann, die transgene Pflanze hervorzubringen.

- Transgene Pflanzen, die die im erfindungsgemäßen Verfahren synthetisierten mehrfach ungesättigten Fettsäuren enthalten, können vorteilhaft direkt vermarktet werden ohne dass die synthetisierten Öle, Lipide oder Fettsäuren isoliert werden müssen. Unter Pflanzen im erfindungsgemäßen Verfahren sind ganze Pflanzen sowie alle Pflanzenteile, Pflanzenorgane oder Pflanzenteile wie Blatt, Stiel, Samen, Wurzel, Knollen, Antheren, Fasern, Wurzelhaare, Stängel, Embryos, Kalli, Kotelydonen, Petiolen, Erntematerial, pflanzliches Gewebe, reproduktives Gewebe, Zellkulturen, die sich von der transgenen Pflanze abgeleiten und/oder dazu verwendet werden können, die transgene Pflanze hervorzubringen. Der Samen umfasst dabei alle Samenteile wie die Samenhüllen, Epidermis- und Samenzellen, Endosperm oder Embryogewebe. Die im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Verbindungen können aber auch aus den Organismen vorteilhaft Pflanzen in Form ihrer Öle, Fett, Lipide und/oder freien Fettsäuren isoliert werden. Durch dieses Verfahren hergestellte mehrfach ungesättigten Fettsäuren lassen sich durch Ernten der Organismen entweder aus der Kultur, in der sie wachsen, oder vom Feld ernten. Dies kann über Pressen oder Extraktion der Pflanzenteile bevorzugt der Pflanzensamen erfolgen. Dabei können die Öle, Fette, Lipide und/oder freien Fettsäuren durch sogenanntes kalt schlagen oder kalt pressen ohne Zuführung von Wärme durch Pressen gewonnen werden. Damit sich die Pflanzenteile speziell die Samen leichter aufschließen lassen, werden sie vorher zerkleinert, gedämpft oder geröstet. Die so vorbehandelten Samen können anschließend gepresst werden oder mit Lösungsmittel wie warmen Hexan extrahiert werden. Anschließend wird das Lösungsmittel wieder entfernt. Im Falle von Mikroorganismen werden diese nach Ernte beispielsweise direkt ohne weitere Arbeitsschritte extrahiert oder aber nach Aufschluss über verschiedene dem Fachmann bekannte Methoden extrahiert. Auf diese Weise können mehr als 96 % der im Verfahren hergestellten Verbindungen isoliert werden. Anschließend werden die so erhaltenen Produkte weiter bearbeitet, das heißt raffiniert. Dabei werden zunächst beispielsweise die Pflanzenschleime und Trübstoffe entfernt. Die sogenannte Entschleimung kann enzymatisch oder beispielsweise chemisch/physikalisch durch Zugabe von Säure wie Phosphorsäure erfolgen. Anschließend werden die freien Fettsäuren durch Behandlung mit einer Base beispielsweise Natronlauge entfernt. Das erhaltene Produkt wird zur Entfernung der im Produkt verbliebenen Lauge mit Wasser gründlich gewaschen und getrocknet. Um die noch im Produkt enthaltenen Farbstoffe zu entfernen werden die Produkte einer Bleichung mit beispielsweise Bleicherde oder Aktivkohle unterzogen. Zum Schluss wird das Produkt noch beispielsweise mit Wasserdampf noch desodoriert.

- Vorzugsweise sind die durch dieses Verfahren produzierten PUFAs bzw. LCPUFAs  $C_{18^-}$ ,  $C_{20^-}$  oder  $C_{22^-}$ -Fettsäuremoleküle vorteilhaft  $C_{20^-}$  oder  $C_{22^-}$ -Fettsäuremoleküle mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen. Diese  $C_{18^-}$ ,  $C_{20^-}$  oder  $C_{22^-}$ -Fettsäuremoleküle lassen sich aus dem Organismus in Form eines Öls, Lipids oder einer freien Fettsäure isolieren.

Geeignete Organismen sind beispielsweise die vorstehend erwähnten. Bevorzugte Organismen sind transgene Pflanzen.

- 5 Eine Ausführungsform der Erfindung sind deshalb Öle, Lipide oder Fettsäuren oder Fraktionen davon, die durch das oben beschriebene Verfahren hergestellt worden sind, besonders bevorzugt Öl, Lipid oder eine Fettsäurezusammensetzung, die PUFAs umfassen und von transgenen Pflanzen herrühren.

- 10 Diese Öle, Lipide oder Fettsäuren enthalten wie oben beschrieben vorteilhaft 6 bis 15 % Palmitinsäure, 1 bis 6 % Stearinsäure; 7 – 85 % Ölsäure; 0,5 bis 8 % Vaccensäure, 0,1 bis 1 % Arachinsäure, 7 bis 25 % gesättigte Fettsäuren, 8 bis 85 % einfach ungesättigte Fettsäuren und 60 bis 85 % mehrfach ungesättigte Fettsäuren jeweils bezogen auf 100 % und auf den Gesamtfettsäuregehalt der Organismen. Als vorteilhafte mehrfach ungesättigte Fettsäure sind in den Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische bevorzugt mindestens 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 oder 1 % bezogen auf den Gesamtfettsäuregehalt an Arachidonsäure enthalten. Weiterhin enthalten die
- 15 Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, vorteilhaft Fettsäuren ausgewählt aus der Gruppe der Fettsäuren Erucasäure (13-Docosaensäure), Sterculinsäure (9,10-Methylene octadec-9-enonsäure), Malvalinsäure (8,9-Methylen Heptadec-8-enonsäure), Chaulmoogrinsäure (Cyclopenten-dodecansäure), Furan-Fettsäure (9,12-Epoxy-octadeca-9,11-
- 20 dienonsäure), Vernonsäure (9,10-Epoxyoctadec-12-enonsäure), Tarinsäure (6-Octadecynonsäure), 6-Nonadecynonsäure, Santalbinsäure (11-Octadecen-9-ynoic acid), 6,9-Octadecenynonsäure, Pyrulinsäure (10-Heptadecen-8-ynonsäure), Crepenyninsäure (9-Octadecen-12-ynonsäure), 13,14-Dihydrooropheinsäure, Octadecen-13-ene-9,11-diynonsäure, Petroselensäure (cis-6-Octadecenonsäure), 9c,12t-Octadecadiensäure, Calendulasäure (8t10t12c-Octadecatriensäure), Catalpinsäure (9t11t13c-Octadecatriensäure), Eleosterinsäure (9c11t13t-Octadecatriensäure), Jacarinsäure (8c10t12c-Octadecatriensäure), Punicinsäure (9c11t13c-Octadecatriensäure), Parinarinsäure (9c11t13t15c-Octadecatetraensäure), Pinolensäure (all-cis-5,9,12-Octadecatriensäure), Laballensäure (5,6-Octadecadienallensäure),
- 30 Ricinolsäure (12-Hydroxyölsäure) und/oder Coriolinsäure (13-Hydroxy-9c,11t-Octadecadienonsäure). Die vorgenannten Fettsäuren kommen in den nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fettsäuregemischen in der Regel vorteilhaft nur in Spuren vor, das heißt sie kommen bezogen auf die Gesamtfettsäuren zu weniger als 30 %, bevorzugt zu weniger als 25 %, 24 %, 23 %, 35 22 % oder 21 %, besonders bevorzugt zu weniger als 20 %, 15 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 % oder 5 %, ganz besonders bevorzugt zu weniger als 4 %, 3 %, 2 % oder 1 % vor. In einer weiteren bevorzugten Form der Erfindung kommen diese vorgenannten Fettsäuren bezogen auf die Gesamtfettsäuren zu weniger als 0,9%; 0,8%; 0,7%; 0,6%; oder 0,5%, besonders bevorzugt zu weniger als 0,4%; 0,3%; 0,2%; 0,1% vor. Vorteilhaft enthalten die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Fettsäureester bzw. Fettsäuregemische weniger als 0,1 % bezogen auf die Gesamtfettsäuren und/oder keine Butterbuttersäure, kein Cholesterin, keine Clupanodonsäure (=
- 40

Docosapentaensäure, C22:5<sup>Δ4,8,12,15,21</sup>) sowie keine Nisinsäure (Tetracosahexaensäure, C23:6<sup>Δ3,8,12,15,18,21</sup>).

- 5 Vorteilhaft enthalten die erfindungsgemäßen Öle, Lipide oder Fettsäuren mindestens 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% oder 5%, vorteilhaft mindestens 6%, 7%, 8%, 9% oder 10%, besonders vorteilhaft mindestens 11%, 12%, 13%, 14% oder 15% ARA oder mindestens 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% oder 5%, vorteilhaft mindestens 6%, oder 7%, besonders vorteilhaft mindestens 8%, 9% oder 10% EPA und/oder DHA bezogen auf den Gesamtfettsäuregehalt des Produktionsorganismus vorteilhaft einer Pflanze, besonders vorteilhaft einer Ölfruchtpflanze wie Soja, Raps, Kokosnuss, Ölpalme, Färbersafflor, Flachs, Hanf, Rizinus, Calendula, Erdnuss, Kakaobohne, Sonnenblume oder
- 10 den oben genannten weiteren ein- oder zweikeimblättrigen Ölfruchtpflanzen.

- Eine weitere erfindungsgemäße Ausführungsform ist die Verwendung des Öls, Lipids, der Fettsäuren und/oder der Fettsäurezusammensetzung in Futtermitteln, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika. Die erfindungsgemäßen Öle, Lipide, Fettsäuren oder Fettsäuregemische können in der dem Fachmann bekannten Weise zur
- 15 Abmischung mit anderen Ölen, Lipiden, Fettsäuren oder Fettsäuregemischen tierischen Ursprungs wie z.B. Fischölen verwendet werden. Auch diese Öle, Lipide, Fettsäuren oder Fettsäuregemische, die aus pflanzlichen und tierischen Bestandteilen bestehen, können zur Herstellung von Futtermitteln, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder
- 20 Pharmazeutika verwendet werden.

- Unter dem Begriff "Öl", "Lipid" oder "Fett" wird ein Fettsäuregemisch verstanden, das ungesättigte, gesättigte, vorzugsweise veresterte Fettsäure(n) enthält. Bevorzugt ist, dass das Öl, Lipid oder Fett einen hohen Anteil an mehrfach ungesättigten freien oder vorteilhaft veresterten Fettsäure(n), insbesondere Linolsäure, γ-Linolensäure, Dihomo-
- 25 γ-linolensäure, Arachidonsäure, α-Linolensäure, Stearidonsäure, Eicosatetraensäure, Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure oder Docosahexaensäure hat. Vorzugsweise ist der Anteil an ungesättigten veresterten Fettsäuren ungefähr 30 %, mehr bevorzugt ist ein Anteil von 50 %, noch mehr bevorzugt ist ein Anteil von 60 %, 70 %, 80 % oder mehr. Zur Bestimmung kann z.B. der Anteil an Fettsäure nach Überführung der Fettsäuren in die Methylester durch Umesterung gaschromatographisch bestimmt
- 30 werden. Das Öl, Lipid oder Fett kann verschiedene andere gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren, z.B. Calendulasäure, Palmitin-, Palmitolein-, Stearin-, Ölsäure etc., enthalten. Insbesondere kann je nach Ausgangsorganismus der Anteil der verschiedenen Fettsäuren in dem Öl oder Fett schwanken.

- 35 Bei den im Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit vorteilhaft mindestens zwei Doppelbindungen enthalten, handelt es sich wie oben beschrieben beispielsweise um Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide, Phospholipide, Monoacylglycerin, Diacylglycerin, Triacylglycerin oder sonstige Fettsäureester.

- 40 Aus den so im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit vorteilhaft mindestens fünf oder sechs Doppelbindungen lassen sich die enthaltenden mehrfach ungesättigten Fettsäuren beispielsweise über eine Alkali-



behandlung beispielsweise wäßrige KOH oder NaOH oder saure Hydrolyse vorteilhaft in Gegenwart eines Alkohols wie Methanol oder Ethanol oder über eine enzymatische Abspaltung freisetzen und isolieren über beispielsweise Phasentrennung und anschließender Ansäuerung über z.B. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Die Freisetzung der Fettsäuren kann auch  
5 direkt ohne die vorhergehend beschriebene Aufarbeitung erfolgen.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren können nach Einbringung in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanzenzelle bzw. Pflanze entweder auf einem separaten Plasmid liegen oder vorteilhaft in das Genom der Wirtszelle integriert sein. Bei Integration in das Genom kann die Integration zufallsgemäß sein oder durch derartige  
10 Rekombination erfolgen, dass das native Gen durch die eingebrachte Kopie ersetzt wird, wodurch die Produktion der gewünschten Verbindung durch die Zelle moduliert wird, oder durch Verwendung eines Gens in trans, so dass das Gen mit einer funktionellen Expressionseinheit, welche mindestens eine die Expression eines Gens gewährleistende Sequenz und mindestens eine die Polyadenylierung eines funktionell  
15 transkribierten Gens gewährleistende Sequenz enthält, funktionell verbunden ist. Vorteilhaft werden die Nukleinsäuren über Multiexpressionskassetten oder Konstrukte zur multiparallelen Expression in die Organismen vorteilhaft zur multiparallelen samenspezifischen Expression von Genen in die Pflanzen gebracht.

Moose und Algen sind die einzigen bekannten Pflanzensysteme, die erhebliche  
20 Mengen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wie Arachidonsäure (ARA) und/oder Eicosapentaensäure (EPA) und/oder Docosahexaensäure (DHA) herstellen. Moose enthalten PUFAs in Membranlipiden während Algen, algenverwandte Organismen und einige Pilze auch nennenswerte Mengen an PUFAs in der Triacylglycerolfraktion akkumulieren. Daher eignen sich Nukleinsäuremoleküle, die aus solchen Stämmen  
25 isoliert werden, die PUFAs auch in der Triacylglycerolfraktion akkumulieren, besonders vorteilhaft für das erfindungsgemäße Verfahren und damit zur Modifikation des Lipid- und PUFA-Produktionssystems in einem Wirt, insbesondere Pflanzen, wie Ölfrüchtpflanzen, beispielsweise Raps, Canola, Lein, Hanf, Soja, Sonnenblumen, Borretsch. Sie sind deshalb vorteilhaft im erfindungsgemäßen Verfahren verwendbar.

Als Substrate der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -5-Elongase-,  $\Delta$ -6-Elongase- und/oder  $\omega$ -3-Desaturase-Aktivität codieren, und/oder den weiteren verwendeten Nukleinsäuren wie den Nukleinsäuren, die für Polypeptide des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels  
35 ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenase(n), Lipoxygenase(n), Triacylglycerol-Lipase(n), Allenoxid-Synthase(n), Hydroperoxid-Lyase(n) oder Fettsäure-Elongase(n)  
40 codieren eignen sich vorteilhaft C<sub>16</sub>-, C<sub>18</sub>- oder C<sub>20</sub>-Fettsäuren. Bevorzugt werden die

im Verfahren als Substrate umgesetzten Fettsäuren in Form ihrer Acyl-CoA-Ester und/oder ihrer Phospholipid-Ester umgesetzt.

- 5 Zur Herstellung der erfindungsgemäßen langkettigen PUFAs müssen die mehrfach ungesättigten C<sub>18</sub>-Fettsäuren zunächst durch die enzymatische Aktivität einer Desaturase zunächst desaturiert und anschließend über eine Elongase um mindestens zwei Kohlenstoffatome verlängert werden. Nach einer Elongationsrunde führt diese Enzymaktivität zu C<sub>20</sub>-Fettsäuren, und nach zwei Elongationsrunden zu C<sub>22</sub>-Fettsäuren. Die Aktivität der erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Desaturasen und Elongasen führt vorzugsweise zu C<sub>18</sub>-, C<sub>20</sub>- und/oder C<sub>22</sub>-Fettsäuren vorteilhaft mit mindestens 10 zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, besonders bevorzugt zu C<sub>20</sub>- und/oder C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen, ganz besonders bevorzugt mit fünf oder sechs Doppelbindungen im Molekül. Nachdem eine erste Desaturierung und die Verlängerung: stattgefunden hat, können weitere Desaturierungs- und Elongierungsschritte wie 15 z.B. eine solche Desaturierung in  $\Delta$ -5- und  $\Delta$ -4-Position erfolgen. Besonders bevorzugt als Produkte des erfindungsgemäßen Verfahrens sind Dihomo- $\gamma$ -linolensäure, Arachidonsäure, Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure. Die C<sub>20</sub>-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen in der Fettsäure können 20 durch die erfindungsgemäße enzymatische Aktivität in Form der freien Fettsäure oder in Form der Ester, wie Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide, Phosphoglyceride, Monoacylglycerin, Diacylglycerin oder Triacylglycerin, verlängert werden.

- Der bevorzugte Biosyntheseort von Fettsäuren, Ölen, Lipiden oder Fette in den vorteilhaft verwendeten Pflanzen ist beispielsweise im allgemeinen der Samen oder 25 Zellschichten des Samens, so dass eine samenspezifische Expression der im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren sinnvoll ist. Es ist jedoch naheliegend, dass die Biosynthese von Fettsäuren, Ölen oder Lipiden nicht auf das Samengewebe beschränkt sein muss, sondern auch in allen übrigen Teilen der Pflanze - beispielsweise in Epidermiszellen oder in den Knollen - gewebespezifisch erfolgen kann.

- 30 Werden im erfindungsgemäßen Verfahren als Organismen Mikroorganismus wie Hefen wie *Saccharomyces* oder *Schizosaccharomyces*, Pilze wie *Mortierella*, *Aspergillus*, *Phytophthora*, *Entomophthora*, *Mucor* oder *Thraustochytrium* Algen wie *Isochrysis*, *Mantoniella*, *Euglena*, *Ostreococcus*, *Phaeodactylum* oder *Cryptocodinium* verwendet, so werden diese Organismen vorteilhaft fermentativ angezogen.

- 35 Durch die Verwendung der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren, die für eine  $\Delta$ -5-Elongase codieren, können im Verfahren die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren mindestens um 5 %, bevorzugt mindestens um 10 %, besonders bevorzugt mindestens um 20 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 50 % gegenüber dem Wildtyp der Organismen, die die Nukleinsäuren nicht rekombinant enthalten, erhöht 40 werden.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren können die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den im Verfahren verwendeten Organismen prinzipiell auf zwei Arten erhöht werden. Es kann vorteilhaft der Pool an freien mehrfach ungesättigten Fettsäuren und/oder der Anteil der über das Verfahren hergestellten veresterten mehrfach ungesättigten Fettsäuren erhöht werden. Vorteilhaft wird durch das erfindungsgemäße Verfahren der Pool an veresterten mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den transgenen Organismen erhöht.

Werden im erfindungsgemäßen Verfahren als Organismen Mikroorganismen verwendet, so werden sie je nach Wirtsorganismus in dem Fachmann bekannter Weise angezogen bzw. gezüchtet. Mikroorganismen werden in der Regel in einem flüssigen Medium, das eine Kohlenstoffquelle meist in Form von Zuckern, eine Stickstoffquelle meist in Form von organischen Stickstoffquellen wie Hefeextrakt oder Salzen wie Ammoniumsulfat, Spurenelemente wie Eisen-, Mangan-, Magnesiumsalze und gegebenenfalls Vitamine enthält, bei Temperaturen zwischen 0°C und 100°C, bevorzugt zwischen 10°C bis 60°C unter Sauerstoffbegasung angezogen. Dabei kann der pH der Nährflüssigkeit auf einen festen Wert gehalten werden, das heißt während der Anzucht reguliert werden oder nicht. Die Anzucht kann batch weise, semi batch weise oder kontinuierlich erfolgen. Nährstoffe können zu Beginn der Fermentation vorgelegt oder semikontinuierlich oder kontinuierlich nachgefüllt werden. Die hergestellten mehrfach ungesättigten Fettsäuren können nach dem Fachmann bekannten Verfahren wie oben beschrieben aus den Organismen isoliert werden. Beispielsweise über Extraktion, Destillation, Kristallisation, ggf. Salzfällung und/oder Chromatographie. Die Organismen können dazu vorher noch vorteilhaft aufgeschlossen werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird, wenn es sich bei den Wirtsorganismen um Mikroorganismen handelt, vorteilhaft bei einer Temperatur zwischen 0°C bis 95°, bevorzugt zwischen 10°C bis 85°C, besonders bevorzugt zwischen 15°C bis 75°C, ganz besonders bevorzugt zwischen 15°C bis 45°C durchgeführt.

Der pH-Wert wird dabei vorteilhaft zwischen pH 4 und 12, bevorzugt zwischen pH 6 und 9, besonders bevorzugt zwischen pH 7 und 8 gehalten..

Das erfindungsgemäße Verfahren kann batchweise, semi-batchweise oder kontinuierlich betrieben werden. Eine Zusammenfassung über bekannte Kultivierungsmethoden ist im Lehrbuch von Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) oder im Lehrbuch von Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)) zu finden.

Das zu verwendende Kulturmedium hat in geeigneter Weise den Ansprüchen der jeweiligen Stämme zu genügen. Beschreibungen von Kulturmedien verschiedener Mikroorganismen sind im Handbuch "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) enthalten.

Diese erfindungsgemäß einsetzbaren Medien umfassen wie oben beschrieben gewöhnlich eine oder mehrere Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganische Salze, Vitamine und/oder Spurenelemente.

- 5 Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr gute Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vorteilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere mögliche Kohlenstoffquellen sind Öle und Fette wie z.B. Sojaöl, Sonnenblumenöl, Erdnussöl und/oder Kokosfett, Fettsäuren wie z.B. Palmitinsäure, Stearinsäure und/oder Linolsäure, Alkohole und/oder Polyalkohole wie z. B. Glycerin, Methanol und/oder Ethanol und/oder organische Säuren wie z.B. Essigsäure und/oder Milchsäure.
- 10
- 15 Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder Materialien, die diese Verbindungen enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak in flüssiger- oder gasform oder Ammoniumsalze, wie Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat, Ammoniumcarbonat oder Ammoniumnitrat, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe Stickstoffquellen, wie Maisquellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere. Die Stickstoffquellen können einzeln oder als Mischung verwendet werden.
- 20
- Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein können, umfassen die Chlorid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium, Mangan, Zink, Kupfer und Eisen.
- 25 Als Schwefelquelle für die Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere von Methionin, können anorganische schwefelhaltige Verbindungen wie beispielsweise Sulfate, Sulfite, Dithionite, Tetrathionate, Thiosulfate, Sulfide aber auch organische Schwefelverbindungen, wie Mercaptane und Thiole, verwendet werden.
- 30 Als Phosphorquelle können Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat oder Dikaliumhydrogenphosphat oder die entsprechenden Natrium haltigen Salze verwendet werden.
- Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten. Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure.
- 35 Die erfindungsgemäß zur Kultivierung von Mikroorganismen eingesetzten Fermentationsmedien enthalten üblicherweise auch andere Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen beispielsweise Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthothensäure und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen Medienkomponenten, wie Hefeextrakt,

Melassen, Maisquellwasser und dergleichen. Dem Kulturmedium können überdies geeignete Vorstufen zugesetzt werden. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. Information über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion, DIFCO) und dergleichen.

Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu Beginn der Anzucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.

Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise zwischen 15°C und 45°C, vorzugsweise bei 25°C bis 40°C und kann während des Experimentes konstant gehalten oder verändert werden. Der pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen. Der pH-Wert für die Anzucht lässt sich während der Anzucht durch Zugabe von basischen Verbindungen wie Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid, Ammoniak bzw. Ammoniakwasser oder sauren Verbindungen wie Phosphorsäure oder Schwefelsäure kontrollieren. Zur Kontrolle der Schaumentwicklung können Antischaummittel wie z. B. Fettsäurepolyglykolester, eingesetzt werden. Zur Aufrechterhaltung der Stabilität von Plasmiden können dem Medium geeignete selektiv wirkende Stoffe, wie z. B. Antibiotika, hinzugefügt werden. Um aerobe Bedingungen aufrechtzuerhalten, werden Sauerstoff oder Sauerstoff haltige Gasmischungen, wie z.B. Umgebungsluft, in die Kultur eingetragen. Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise bei 20°C bis 45°C und vorzugsweise bei 25°C bis 40°C. Die Kultur wird solange fortgesetzt, bis sich ein Maximum des gewünschten Produktes gebildet hat. Dieses Ziel wird normalerweise innerhalb von 10 Stunden bis 160 Stunden erreicht.

Die so erhaltenen, insbesondere mehrfach ungesättigte Fettsäuren enthaltenden, Fermentationsbrühen haben üblicherweise eine Trockenmasse von 7,5 bis 25 Gew.-%.

Die Fermentationsbrühe kann anschließend weiterverarbeitet werden. Je nach Anforderung kann die Biomasse ganz oder teilweise durch Separationsmethoden, wie z. B. Zentrifugation, Filtration, Dekantieren oder einer Kombination dieser Methoden aus der Fermentationsbrühe entfernt oder vollständig in ihr belassen werden. Vorteilhaft wird die Biomasse nach Abtrennung aufgearbeitet.

Die Fermentationsbrühe kann aber auch ohne Zellabtrennung mit bekannten Methoden, wie z. B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers, Dünnschichtverdampfers, Fallfilmverdampfers, durch Umkehrosmose, oder durch Nanofiltration, eingedickt beziehungsweise aufkonzentriert werden. Diese aufkonzentrierte Fermentationsbrühe kann schließlich zur Gewinnung der darin enthaltenen Fettsäuren aufgearbeitet werden.

Die im Verfahren gewonnenen Fettsäuren eignen sich auch als Ausgangsmaterial für die chemische Synthese von weiteren Wertprodukten. Sie können beispielsweise in Kombination miteinander oder allein zur Herstellung von Pharmaka, Nahrungsmittel, Tierfutter oder Kosmetika verwendet werden.

- 5 Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongase codieren, wobei die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten  $\Delta$ -5-Elongasen  $C_{20}$ -Fettsäuren mit mindestens vier Doppelbindungen im Fettsäuremolekül umsetzen; die vorteilhaft letztlich in Diacylglyceride und/oder Triacylglyceride eingebaut werden.
- 10 Vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität codieren und die eine Aminosäuresequenz enthalten ausgewählt aus der Gruppe einer Aminosäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141 oder SEQ ID NO: 142 dargestellten Sequenz.
- 15 Weitere vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität codieren und die eine Kombination der Aminosäuresequenzen enthalten ausgewählt aus der Gruppe:
  - a) SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140; oder
  - 20 b) SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 142 oder SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142; oder
  - c) SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142.
- 25 Die in den Sequenzen SEQ ID NO: 115 (NXXXHXXMYXXYX), SEQ ID NO: 116 (HHXXXXWAWW), SEQ ID NO: 139 (LHXXHH), SEQ ID NO: 140 (TXXQXXQF), SEQ ID NO: 141 (DTXFMV) und SEQ ID NO: 142 (TQAQXXQF) wiedergegebenen Sequenzen stellen konservierte Bereiche der verschiedenen Elongasen wieder. Tabelle 2 gibt die Bedeutung der in den genannten Nukleinsäuresequenzen enthaltenen mit X bezeichneten Aminosäuren wieder (Spalte 3). Auch die bevorzugten Aminosäuren in
- 30 den verschiedenen Positionen sind der Tabelle zu entnehmen (Spalte 3). Spalte 1 gibt die SEQ ID NO wieder, Spalte 2 die Position in der Sequenz.

Tabelle 2: Bedeutung der mit X bezeichneten Aminosäure in den Konsensus-Sequenzen.

SEQ ID NO:	Position des X in der Sequenz	Aminosäure	bevorzugte Aminosäure
115 (NXXXHXXMYXXYX)	2	Ser, Cys, Leu, Gly	Cys, Leu
115	3	Thr, Phe, Ile, Ser, Val, Trp, Gly	Phe, Trp
115	4	Val, Ile	Val, Ile
115	6	Val, Ile, Thr	Val, Ile
115	7	Ile, Phe, Val, Leu, Cys	Cys, Val
115	10	Ser, Gly, Tyr, Thr, Ala	Thr, Ser
115	13	Phe, Met, Thr, Leu, Ala, Gly	Leu
116 (HHXXXXWAWW)	3	Ala, Ser, Thr	Ala, Ser besonders bevorzugt Ala
116	4	Thr, Met, Val, Leu, Ile, Ser	Leu, Thr besonders bevorzugt Leu
116	5	Val, Thr, Met, Leu, Ile	Ile, Ser besonders bevorzugt Ile
116	6	Val, Met, Leu, Ile, Ala, Pro, Ser, Phe	Ile, Ser besonders bevorzugt Ile
139 LHXXHH	3	Val, Tyr, Ile	Val, Thr
139	4	Tyr, Phe	Tyr

SEQ ID NO:	Position des X in der Sequenz	Aminosäure	bevorzugte Aminosäure
140 TXXQXXQF	2	Asn, Asp, Thr, Gln, Met, Ser, Ala	Gln
140	3	Thr, Cys, Leu, Met, Ala, Ile, Val, Phe	Ala, Met
140	5	Met, Ile, Leu	Met
140	6	Val, Ile, Leu, Thr, Phe	Leu
141 DTXFMV	3	Leu, Ile, Val, Tyr, Phe, Ala	Phe
142 TQAQXXQF	5	Met, Ile, Leu	Met, Leu besonders bevorzugt Met
142	6	Val, Ile, Leu, Thr, Phe	Leu

Besonders vorteilhafte  $\Delta$ -5-Elongasen enthalten mindestens eine der Sequenzen SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 141 und/oder SEQ ID NO: 142.

5 Besonders vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:

- 10 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Sequenz,
- 15 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63; SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67,



5 SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 codieren und eine  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität aufweisen.

10 Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- 15 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 111 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 112 oder SEQ ID NO: 184 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 20 c) Derivate der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 111 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 112 oder SEQ ID NO: 184 codieren und eine  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\omega$ -3-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- 25 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 30 c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 aufweisen und eine  $\omega$ -3-Desaturaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -6-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- 35 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 89 oder in SEQ ID NO: 97 dargestellten Sequenz,

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 89 oder SEQ ID NO: 97 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 codieren und eine  $\Delta$ -6-Desaturaseaktivität aufweisen.

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- 10 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 15 c) Derivate der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 codieren und eine  $\Delta$ -5-Desaturaseaktivität aufweisen.

20 Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 95 oder in SEQ ID NO: 103 dargestellten Sequenz,
- 25 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 95 oder SEQ ID NO: 103 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 codieren und eine  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 30

Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -12-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder in SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz,

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 50 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine  $\Delta$ -12-Desaturaseaktivität aufweisen.

- Ein weiterer Erfindungsgegenstand sind Genkonstrukte, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 enthalten, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen verbunden ist. Zusätzlich können weitere Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylasen, Lipoxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) im Genkonstrukt enthalten sein. Vorteilhaft sind zusätzlich Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe der  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -8-Desaturase,  $\Delta$ -9-Desaturase,  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\Delta$ -6-Elongase,  $\Delta$ -9-Elongase oder  $\omega$ -3-Desaturase enthalten.
- 30 Vorteilhaft stammen alle die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen aus einem eukaryontischen Organismus wie einer Pflanze, einem Mikroorganismus oder einem Tier. Bevorzugt stammen die Nukleinsäuresequenzen aus der Ordnung Salmoniformes, Xenopus oder Ciona, Algen wie Mantoniella, Cryptocodinium, Euglena oder Ostreococcus, Pilzen wie der Gattung Phytophthora oder von Diatomeen wie den Gattungen Thalassiosira oder Phaeodactylum.

- Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen, die für Proteine mit  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Desaturase-,  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase-,  $\Delta$ -6-Elongase- oder  $\Delta$ -9-Elongase-Aktivität codieren, werden vorteilhaft allein oder bevorzugt in Kombination in einer Expressionskassette (= Nukleinsäurekonstrukt), die die Expression der Nukleinsäuren in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanze oder einem Mikroorganismus ermöglicht,

eingbracht. Es kann im Nukleinsäurekonstrukt mehr als eine Nukleinsäuresequenz einer enzymatischen Aktivität wie z.B. einer  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase,  $\Delta$ -6-Elongase und/oder  $\omega$ -3-Desaturase enthalten sein.

- 5 Zum Einbringen werden die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren vorteilhaft einer Amplifikation und Ligation in bekannter Weise unterworfen. Vorzugsweise geht man in Anlehnung an das Protokoll der Pfu-DNA-Polymerase oder eines Pfu/Taq-DNA-Polymerasegemisches vor. Die Primer werden in Anlehnung an die zu amplifizierende Sequenz gewählt. Zweckmäßigerweise sollten die Primer so gewählt werden, dass das
- 10 Amplifikat die gesamte kodogene Sequenz vom Start- bis zum Stop-Kodon umfasst. Im Anschluss an die Amplifikation wird das Amplifikat zweckmäßigerweise analysiert. Beispielsweise kann die Analyse nach gelelektrophoretischer Auftrennung hinsichtlich Qualität und Quantität erfolgen. Im Anschluss kann das Amplifikat nach einem Standardprotokoll gereinigt werden (z.B. Qiagen). Ein Aliquot des gereinigten Amplifi-
- 15 kats steht dann für die nachfolgende Klonierung zur Verfügung. Geeignete Klonierungsvektoren sind dem Fachmann allgemein bekannt. Hierzu gehören insbesondere Vektoren, die in mikrobiellen Systemen replizierbar sind, also vor allem Vektoren, die eine effiziente Klonierung in Hefen oder Pilze gewährleisten, und die stabile Transformation von Pflanzen ermöglichen. Zu nennen sind insbesondere verschiedene für die
- 20 T-DNA-vermittelte Transformation geeignete, binäre und co-integrierte Vektorsysteme. Derartige Vektorsysteme sind in der Regel dadurch gekennzeichnet, dass sie zumindest die für die Agrobacterium-vermittelte Transformation benötigten vir-Gene sowie die T-DNA begrenzenden Sequenzen (T-DNA-Border) beinhalten. Vorzugsweise umfassen diese Vektorsysteme auch weitere cis-regulatorische Regionen wie Promo-
- 25 toren und Terminatoren und/oder Selektionsmarker, mit denen entsprechend transformierte Organismen identifiziert werden können. Während bei co-integrierten Vektorsystemen vir-Gene und T-DNA-Sequenzen auf demselben Vektor angeordnet sind, basieren binäre Systeme auf wenigstens zwei Vektoren, von denen einer vir-Gene, aber keine T-DNA und ein zweiter T-DNA, jedoch kein vir-Gen trägt. Dadurch sind
- 30 letztere Vektoren relativ klein, leicht zu manipulieren und sowohl in E.-coli als auch in Agrobacterium zu replizieren. Zu diesen binären Vektoren gehören Vektoren der Serien pBIB-HYG, pPZP, pBecks, pGreen. Erfindungsgemäß bevorzugt verwendet werden Bin19, pBI101, pBinAR, pGPTV und pCAMBIA. Eine Übersicht über binäre Vektoren und ihre Verwendung gibt Hellens et al, Trends in Plant Science (2000) 5,
- 35 446–451. Für die Vektorpräparation können die Vektoren zunächst mit Restriktionsendonuklease(n) linearisiert und dann in geeigneter Weise enzymatisch modifiziert werden. Im Anschluss wird der Vektor gereinigt und ein Aliquot für die Klonierung eingesetzt. Bei der Klonierung wird das enzymatisch geschnittenen und erforderlichen-
- 40 falls gereinigten Amplifikat mit ähnlich präparierten Vektorfragmenten mit Einsatz von Ligase kloniert. Dabei kann ein bestimmtes Nukleinsäurekonstrukt bzw. Vektor- oder Plasmidkonstrukt einen oder auch mehrere kodogene Genabschnitte aufweisen. Vorzugsweise sind die kodogenen Genabschnitte in diesen Konstrukten mit regulatorischen Sequenzen funktional verknüpft. Zu den regulatorischen Sequenzen gehören insbesondere pflanzliche Sequenzen wie die oben beschriebenen Promotoren und

Terminatoren. Die Konstrukte lassen sich vorteilhafterweise in Mikroorganismen, insbesondere *Escherichia coli* und *Agrobacterium tumefaciens*, unter selektiven Bedingungen stabil propagieren und ermöglichen einen Transfer von heterologer DNA in Pflanzen oder Mikroorganismen.

- 5 Unter der vorteilhaften Verwendung von Klonierungsvektoren können die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die erfinderischen Nukleinsäuren und Nukleinsäurekonstrukte in Organismen wie Mikroorganismen oder vorteilhaft Pflanzen eingebracht werden und damit bei der Pflanzentransformation verwendet werden, wie denjenigen, die veröffentlicht sind in und dort zitiert sind: *Plant Molecular Biology and Biotechnology* (CRC Press, Boca Raton, Florida), Kapitel 6/7, S. 71-119 (1993); F.F. White, *Vectors for Gene Transfer in Higher Plants*; in: *Transgenic Plants*, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, 15-38; B. Jené et al., *Techniques for Gene Transfer*, in: *Transgenic Plants*, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-143; Potrykus, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42 (1991), 205-225). Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die erfinderischen Nukleinsäuren und Nukleinsäurekonstrukte und/oder Vektoren lassen sich damit zur gentechnologischen Veränderung eines breiten Spektrums an Organismen vorteilhaft an Pflanzen verwenden, so dass diese bessere und/oder effizientere Produzenten von PUFAs werden.
- 10
- 15
- 20 Es gibt eine Reihe von Mechanismen, durch die eine Veränderung des erfindungsgemäßen  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase- und/oder  $\omega$ -3-Desaturase-Proteins sowie der weiteren im Verfahren verwendeten Proteine wie die  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase- oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Proteine möglich ist, so dass die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der vorteilhaft mehrfach ungesättigten Fettsäuren in einer Pflanze bevorzugt in einer Ölfuchtpflanze oder einem Mikroorganismus aufgrund dieses veränderten Proteins direkt beeinflusst werden kann. Die Anzahl oder Aktivität der  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Proteine oder -Gene kann erhöht werden, so dass größere Mengen der Genprodukte und damit letztlich größere Mengen der Verbindungen der allgemeinen Formel I hergestellt werden. Auch eine de novo Synthese in einem Organismus, dem die Aktivität und Fähigkeit zur Biosynthese der Verbindungen vor dem Einbringen des/der entsprechenden Gens/Gene fehlte, ist möglich. Entsprechendes gilt für die Kombination mit weiteren Desaturasen oder Elongasen oder weiteren Enzymen aus dem Fettsäure- und Lipidstoffwechsel.
- 25
- 30
- 35
- 40 Auch die Verwendung verschiedener divergenter, d.h. auf DNA-Sequenzebene unterschiedlicher Sequenzen kann dabei vorteilhaft sein bzw. die Verwendung von Promotoren zur Genexpression, die eine andere zeitliche Genexpression z.B. abhängig vom Reifegrad eines Samens oder Öl-speichernden Gewebes ermöglicht.

Durch das Einbringen eines  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase-

und/oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Genes in einen Organismus allein oder in Kombination mit anderen Genen in eine Zelle kann nicht nur den Biosynthesefluss zum Endprodukt erhöht, sondern auch die entsprechende Triacylglycerin-Zusammensetzung erhöht oder de novo geschaffen werden. Ebenso kann die Anzahl oder Aktivität anderer

5 Gene, die am Import von Nährstoffen, die zur Biosynthese einer oder mehrerer Fettsäuren, Ölen, polaren und/oder neutralen Lipiden nötig sind, erhöht sein, so dass die Konzentration dieser Vorläufer, Cofaktoren oder Zwischenverbindungen innerhalb der Zellen oder innerhalb des Speicherkompartiments erhöht ist, wodurch die Fähigkeit

10 der Zellen zur Produktion von PUFAs, wie im folgenden beschrieben, weiter gesteigert wird. Durch Optimierung der Aktivität oder Erhöhung der Anzahl einer oder mehrerer  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Gene, die an der Biosynthese dieser Verbindungen beteiligt sind, oder durch Zerstören der Aktivität

15 einer oder mehrerer Gene, die am Abbau dieser Verbindungen beteiligt sind, kann es möglich sein, die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion von Fettsäure- und Lipidmolekülen aus Organismen und vorteilhaft aus Pflanzen zu steigern.

Die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten isolierten Nukleinsäuremoleküle codieren für Proteine oder Teile von diesen, wobei die Proteine oder das einzelne Protein oder Teile davon eine Aminosäuresequenz enthält, die ausreichend homolog

20 zu einer Aminosäuresequenz ist, die in den Sequenzen SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID

25 NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID

30 NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138 oder SEQ ID NO: 184 dargestellt ist, so dass die Proteine oder Teile davon noch eine  $\Delta$ -12-

35 Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Aktivität aufweisen. Vorzugsweise haben die Proteine oder Teile davon, die von dem Nukleinsäuremolekül/den Nukleinsäuremolekülen kodiert wird/werden, noch seine wesentliche enzymatische Aktivität und die Fähigkeit, am Stoffwechsel von zum Aufbau von Zellmembranen oder Lipidkörperchen in Organismen vorteilhaft in Pflanzen notwendigen Verbindungen

40 oder am Transport von Molekülen über diese Membranen teilzunehmen. Vorteilhaft sind die von den Nukleinsäuremolekülen kodierten Proteine zu mindestens etwa 50 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 %, 80 % oder 90 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr

identisch zu den in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138 oder SEQ ID NO: 184 dargestellten Aminosäuresequenzen. Im Sinne der Erfindung ist unter Homologie oder homolog, Identität oder identisch zu verstehen.

Die Homologie wurde über den gesamten Aminosäure- bzw. Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für das Vergleichen verschiedener Sequenzen stehen dem Fachmann eine Reihe von Programmen, die auf verschiedenen Algorithmen beruhen zur Verfügung. Dabei liefern die Algorithmen von Needleman und Wunsch oder Smith und Waterman besonders zuverlässige Ergebnisse. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981)), die im GCG Software-Packet [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in Prozent angegebenen Sequenzhomologiewerte wurden mit dem Programm GAP über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Diese Einstellungen wurden, falls nicht anders angegeben, immer als Standardeinstellungen für Sequenzvergleiche verwendet wurden.

Unter wesentlicher enzymatischer Aktivität der im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -8-Desaturase,  $\Delta$ -6-Elongase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase oder  $\Delta$ -4-Desaturase ist zu verstehen, dass sie gegenüber den durch die Sequenz mit SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID

NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 und deren Derivate codierten Proteinen/Enzymen im Vergleich noch mindestens eine enzymatische Aktivität von mindestens 10 %, bevorzugt 20 %, besonders bevorzugt 30 % und ganz besonders 40 % aufweisen und damit am Stoffwechsel von zum Aufbau von Fettsäuren, Fettsäureester wie Diacylglyceride und/oder Triacylglyceride in einem Organismus vorteilhaft einer Pflanze oder Pflanzenzelle notwendigen Verbindungen oder am Transport von Molekülen über Membranen teilnehmen können, wobei C<sub>18</sub>-, C<sub>20</sub>- oder C<sub>22</sub>-Kohlenstoffketten im Fettsäuremolekül mit Doppelbindungen an mindestens zwei, vorteilhaft drei, vier, fünf oder sechs Stellen gemeint sind.

Vorteilhaft im Verfahren verwendbare Nukleinsäuren stammen aus Bakterien, Pilzen, Diatomeen, Tieren wie *Caenorhabditis* oder *Oncorhynchus* oder Pflanzen wie Algen oder Moosen wie den Gattungen *Shewanella*, *Physcomitrella*, *Thraustochytrium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Ceratodon*, *Mantoniella*, *Ostreococcus*, *Isochrysis*, *Aleurita*, *Muscarioides*, *Mortierella*, *Borago*, *Phaeodactylum*, *Cryptocodinium*, speziell aus den Gattungen und Arten *Oncorhynchus mykiss*, *Xenopus laevis*, *Ciona intestinalis*, *Thalassiosira pseudonana*, *Mantoniella squamata*, *Ostreococcus* sp., *Ostreococcus tauri*, *Euglena gracilis*, *Physcomitrella patens*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium gramineum*, *Cryptocodinium cohnii*, *Ceratodon purpureus*, *Isochrysis galbana*, *Aleurita farinosa*, *Thraustochytrium* sp., *Muscarioides vialii*, *Mortierella alpina*, *Borago officinalis*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Caenorhabditis elegans* oder besonders vorteilhaft aus *Oncorhynchus mykiss*, *Euglena gracilis*, *Thalassiosira pseudonana* oder *Cryptocodinium cohnii*.

Alternativ können im erfindungsgemäßen Verfahren Nukleotidsequenzen verwendet werden, die für eine  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -9-Elongase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -8-Desaturase,  $\Delta$ -6-Elongase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase oder  $\Delta$ -4-Desaturase codieren und die an eine Nukleotidsequenz, wie in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 dargestellt, vorteilhaft unter stringenten Bedingungen hybridisieren.



Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen werden vorteilhaft in einer Expressionskassette, die die Expression der Nukleinsäuren in Organismen wie Mikroorganismen oder Pflanzen ermöglicht, eingebracht.

5 Dabei werden die Nukleinsäuresequenzen, die für die  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -9-Elongase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -8-Desaturase,  $\Delta$ -6-Elongase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase oder  $\Delta$ -4-Desaturase codieren, mit einem oder mehreren Regulationssignalen vorteilhafterweise zur Erhöhung der Genexpression funktionell verknüpft. Diese regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Gene und der Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je  
10 nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert und/oder überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird. Beispielsweise handelt es sich bei diesen regulatorischen Sequenzen um Sequenzen an die Induktoren oder Repressoren binden und so die Expression der Nukleinsäure regulieren. Zusätzlich zu diesen neuen Regulationssequenzen oder  
15 anstelle dieser Sequenzen kann die natürliche Regulation dieser Sequenzen vor den eigentlichen Strukturgenen noch vorhanden sein und gegebenenfalls genetisch verändert worden sein, so dass die natürliche Regulation ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht wurde. Die Expressionskassette (= Expressionskonstrukt = Genkonstrukt) kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es wurden keine  
20 zusätzlichen Regulationssignale vor die Nukleinsäuresequenz oder dessen Derivate inseriert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wurde nicht entfernt. Stattdessen wurde die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und/oder die Genexpression gesteigert wird. Diese veränderten Promotoren können in Form von Teilsequenzen (= Promotor mit Teilen der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen) auch allein vor das natürliche Gen zur Steigerung der Aktivität gebracht werden. Das Genkonstrukt kann außerdem vorteilhafterweise auch eine oder mehrere sogenannte "enhancer Sequenzen" funktionell verknüpft mit dem Promotor enthalten, die eine erhöhte Expression der Nukleinsäuresequenz ermöglichen. Auch am 3'-Ende der DNA-Sequenzen können zusätzliche vorteilhafte  
30 Sequenzen inseriert werden wie weitere regulatorische Elemente oder Terminatoren. Die  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase-,  $\Delta$ -6-Elongase- und/oder  $\Delta$ -9-Elongase-Gene können in einer oder mehreren Kopien in der Expressionskassette (= Genkonstrukt) enthalten sein. Vorteilhaft liegt nur jeweils eine Kopie der Gene in der  
35 Expressionskassette vor. Dieses Genkonstrukt oder die Genkonstrukte können zusammen im Wirtsorganismus exprimiert werden. Dabei kann das Genkonstrukt oder die Genkonstrukte in einem oder mehreren Vektoren inseriert sein und frei in der Zelle vorliegen oder aber im Genom inseriert sein. Es ist vorteilhaft für die Insertion weiterer Gene im Wirtsgenom, wenn die zu exprimierenden Gene zusammen in einem Genkonstrukt vorliegen.  
40

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhaft-

erweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

- 5 Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sind ein oder mehrere Genkonstrukte, die eine oder mehrere Sequenzen enthalten, die durch SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 oder dessen Derivate definiert sind und für Polypeptide gemäß SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138 oder SEQ ID NO: 184 kodieren. Die genannten  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Proteine führen dabei vorteilhaft zu einer Desaturierung oder Elongierung von Fettsäuren, wobei das Substrat vorteilhaft ein, zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen aufweist und vorteilhaft 18, 20 oder 22 Kohlenstoffatome im Fettsäuremolekül aufweist. Gleiches gilt für ihre Homologen, Derivate oder Analoga, die funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen, vorteilhafterweise zur Steigerung der Genexpression, verbunden sind.
- 40 Vorteilhafte Regulationssequenzen für das neue Verfahren liegen beispielsweise in Promotoren vor, wie dem *cos*-, *tac*-, *trp*-, *tet*-, *trp-tet*-, *lpp*-, *lac*-, *lpp-lac*-, *lacIq*-, *T7*-, *T5*-, *T3*-, *gal*-, *trc*-, *ara*-, *SP6*-,  $\lambda$ -PR- oder  $\lambda$ -PL-Promotor und werden vorteilhafterweise in Gram-negativen Bakterien angewendet. Weitere vorteilhafte Regulations-

sequenzen liegen beispielsweise in den Gram-positiven Promotoren amy und SPO2, in den Hefe- oder Pilzpromotoren ADC1, MF $\alpha$ , AC, P-60, CYC1, GAPDH, TEF, rp28, ADH oder in den Pflanzenpromotoren CaMV/35S [Franck et al., Cell 21 (1980) 285–294], PRP1 [Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993)], SSU, OCS, lib4, usp, STLS1, B33, nos oder im Ubiquitin- oder Phaseolin-Promotor vor. In diesem Zusammenhang vorteilhaft sind ebenfalls induzierbare Promotoren, wie die in EP-A-0 388 186 (Benzylsulfonamid-induzierbar), Plant J. 2, 1992:397–404 (Gatz et al., Tetracyclin-induzierbar), EP-A-0 335 528 (Absisinsäure-induzierbar) oder WO 93/21334 (Ethanol- oder Cyclohexenol-induzierbar) beschriebenen Promotoren. Weitere geeignete Pflanzenpromotoren sind der Promotor von cytosolischer FBPase oder der ST-LSI-Promotor der Kartoffel (Stockhaus et al., EMBO J. 8, 1989, 2445), der Phosphoribosylpyrophosphatamidotransferase-Promotor aus Glycine max (Genbank-Zugangsnr. U87999) oder der in EP-A-0 249 676 beschriebene nodienspezifische Promotor. Besonders vorteilhafte Promotoren sind Promotoren, welche die Expression in Geweben ermöglichen, die an der Fettsäurebiosynthese beteiligt sind. Ganz besonders vorteilhaft sind samenspezifische Promotoren, wie der ausführungsgemäße USP Promotor aber auch andere Promotoren wie der LeB4-, DC3, Phaseolin- oder Napin-Promotor. Weitere besonders vorteilhafte Promotoren sind samenspezifische Promotoren, die für monokotyle oder dikotyle Pflanzen verwendet werden können und in US 5,608,152 (Napin-Promotor aus Raps), WO 98/45461 (Oleosin-Promotor aus Arabidopsis), US 5,504,200 (Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris), WO 91/13980 (Bce4-Promotor aus Brassica), von Bäumlein et al., Plant J., 2, 2, 1992:233–239 (LeB4-Promotor aus einer Leguminose) beschrieben sind, wobei sich diese Promotoren für Dikotyledonen eignen. Die folgenden Promotoren eignen sich beispielsweise für Monokotyledonen lpt-2- oder lpt-1-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230), Hordein-Promotor aus Gerste und andere, in WO 99/16890 beschriebene geeignete Promotoren.

Es ist im Prinzip möglich, alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen, wie die oben genannten, für das neue Verfahren zu verwenden. Es ist ebenfalls möglich und vorteilhaft, zusätzlich oder alleine synthetische Promotoren zu verwenden, besonders wenn sie eine Samen-spezifische Expression vermitteln, wie z.B. beschrieben in WO 99/16890.

Um einen besonders hohen Gehalt an PUFAs vor allem in transgenen Pflanzen zu erzielen, sollten die PUFA-Biosynthesegene vorteilhaft samenspezifisch in Ölsaaten exprimiert werden. Hierzu können Samen-spezifische Promotoren verwendet werden, bzw. solche Promotoren die im Embryo und/oder im Endosperm aktiv sind. Samen-spezifische Promotoren können prinzipiell sowohl aus dikotyledonen als auch aus monokotyledonen Pflanzen isoliert werden. Im folgenden sind vorteilhafte bevorzugte Promotoren aufgeführt: USP (= unknown seed protein) und Vicilin (Vicia faba) [Bäumlein et al., Mol. Gen. Genet., 1991, 225(3)], Napin (Raps) [US 5,608,152], Acyl-Carrier Protein (Raps) [US 5,315,001 und WO 92/18634], Oleosin (Arabidopsis thaliana) [WO 98/45461 und WO 93/20216], Phaseolin (Phaseolus vulgaris) [US 5,504,200], Bce4 [WO 91/13980], Leguminosen B4 (LegB4-Promotor) [Bäumlein et al., Plant J.,

- 2,2, 1992], Lpt2 und lpt1(Gerste) [WO 95/15389 u. WO95/23230], Samen-spezifische Promotoren aus Reis, Mais u. Weizen [WO 99/16890], Amy32b, Amy 6-6 und Aleurain [US 5,677,474], Bce4 (Raps) [US 5,530,149], Glycinin (Soja) [EP 571 741], Phosphoenol-Pyruvatcarboxylase (Soja) [JP 06/62870], ADR12-2 (Soja) [WO 98/08962], Isocitratlyase (Raps) [US 5,689,040] oder  $\alpha$ -Amylase (Gerste) [EP 781 849].

- Die Pflanzengenexpression lässt sich auch über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäure-induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

- Um eine stabile Integration der Biosynthesegene in die transgene Pflanze über mehrere Generation sicherzustellen, sollte jede der im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für die  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -9-Elongase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -8-Desaturase,  $\Delta$ -6-Elongase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase und/oder  $\Delta$ -4-Desaturase codieren, unter der Kontrolle eines eigenen bevorzugt eines unterschiedlichen Promotors exprimiert werden, da sich wiederholende Sequenzmotive zu Instabilität der T-DNA bzw. zu Rekombinationsereignissen führen können. Die Expressionskassette ist dabei vorteilhaft so aufgebaut, dass einem Promotor eine geeignete Schnittstelle zur Insertion der zu exprimierenden Nukleinsäure folgt vorteilhaft in einem Polylinker anschließend gegebenenfalls ein Terminator hinter dem Polylinker liegt. Diese Abfolge wiederholt sich mehrfach bevorzugt drei-, vier- oder fünfmal, so dass bis zu fünf Gene in einem Konstrukt zusammengeführt werden können. Vorteilhaft so zur Expression in die transgene Pflanze eingebracht werden können. Wiederholt sich die Abfolge bis zu dreimal. Die Nukleinsäuresequenzen werden zur Expression über die geeignete Schnittstelle beispielsweise im Polylinker hinter den Promotor inseriert. Vorteilhaft hat jede Nukleinsäuresequenz ihren eigenen Promotor und gegebenenfalls ihren eigenen Terminator. Derartige vorteilhafte Konstrukte werden beispielsweise in DE 10102337 oder DE 10102338 offenbart. Es ist aber auch möglich mehrere Nukleinsäuresequenzen hinter einem Promotor und ggf. vor einem Terminator zu inserieren. Dabei ist die Insertionsstelle bzw. die Abfolge der inserierten Nukleinsäuren in der Expressionskassette nicht von entscheidender Bedeutung, das heißt eine Nukleinsäuresequenz kann an erster oder letzter Stelle in der Kassette inseriert sein, ohne dass dadurch die Expression wesentlich beeinflusst wird. Es können in der Expressionskassette vorteilhaft unterschiedliche Promotoren wie beispielsweise der USP-, LegB4 oder DC3-Promotor und unterschiedliche Terminatoren verwendet werden. Es ist aber auch möglich nur einen Promotortyp in der Kassette zu verwenden. Dies kann jedoch zu unerwünschten Rekombinationsereignissen führen.
- Wie oben beschrieben sollte die Transkription der eingebrachten Gene vorteilhaft durch geeignete Terminatoren am 3'-Ende der eingebrachten Biosynthesegene (hinter dem Stoppcodon) abgebrochen werden. Verwendet werden kann hier z.B. der OCS1

Terminator. Wie auch für die Promotoren, so sollten hier für jedes Gen unterschiedliche Terminatorsequenzen verwendet werden.

Das Genkonstrukt kann, wie oben beschrieben, auch weitere Gene umfassen, die in die Organismen eingebracht werden sollen. Es ist möglich und vorteilhaft, in die Wirtsorganismen Regulationsgene, wie Gene für Induktoren, Repressoren oder Enzyme, welche durch ihre Enzymaktivität in die Regulation eines oder mehrerer Gene eines Biosynthesewegs eingreifen, einzubringen und darin zu exprimieren. Diese Gene können heterologen oder homologen Ursprungs sein. Weiterhin können vorteilhaft im Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt weitere Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthalten sein oder aber diese Gene können auf einem weiteren oder mehreren weiteren Nukleinsäurekonstrukten liegen. Vorteilhaft werden als Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ein Gen ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenase(n), Lipoxxygenase(n), Triacylglycerol-Lipase(n), Allenoxid-Synthase(n), Hydroperoxid-Lyase(n) oder Fettsäure-Elongase(n) oder deren Kombinationen verwendet. Besonders vorteilhafte Nukleinsäuresequenzen sind Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ausgewählt aus der Gruppe der Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -8-Desaturase,  $\Delta$ -9-Desaturase,  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase,  $\Delta$ -6-Elongase und/oder  $\Delta$ -9-Elongase.

Dabei können die vorgenannten Nukleinsäuren bzw. Gene in Kombination mit anderen Elongasen und Desaturasen in Expressionskassetten, wie den vorgenannten, kloniert werden und zur Transformation von Pflanzen Mithilfe von Agrobakterium eingesetzt werden.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhaft-erweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird. Die Expressionskassetten können prinzipiell direkt zum Einbringen in die Pflanze verwendet werden oder aber in einen Vektoren eingebracht werden.

Diese vorteilhaften Vektoren, vorzugsweise Expressionsvektoren, enthalten die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für die  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\omega$ -3-Desaturasen,  $\Delta$ -9-Elongasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -8-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Elongasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Elongasen oder  $\Delta$ -4-Desaturasen codieren, oder ein Nukleinsäurekonstrukt, die die verwendeten Nukleinsäure allein oder in Kombination mit weiteren Biosynthesegenen des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels wie den Acyl-

CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen,  $\omega$ -3-Desaturasen,  $\Delta$ -4-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -8-Desaturasen,  $\Delta$ -9-Desaturasen,  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\omega$ 3-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Elongasen,  $\Delta$ -6-Elongasen und/oder  $\Delta$ -9-Elongasen. Wie hier verwendet, betrifft der Begriff "Vektor" ein Nukleinsäuremolekül, das eine andere

5 Nukleinsäure transportieren kann, an welche es gebunden ist. Ein Vektortyp ist ein "Plasmid", was für eine zirkuläre doppelsträngige DNA-Schleife steht, in die zusätzlichen DNA-Segmente ligiert werden können. Ein weiterer Vektortyp ist ein viraler Vektor, wobei zusätzliche DNA-Segmente in das virale Genom ligiert werden können. Bestimmte Vektoren können in einer Wirtszelle, in die sie eingebracht worden sind,

10 autonom replizieren (z.B. Bakterienvektoren mit bakteriellem Replikationsursprung). Andere Vektoren werden vorteilhaft beim Einbringen in die Wirtszelle in das Genom einer Wirtszelle integriert und dadurch zusammen mit dem Wirtsgenom repliziert. Zudem können bestimmte Vektoren die Expression von Genen, mit denen sie funktionsfähig verbunden sind, steuern. Diese Vektoren werden hier als "Expressionsvektoren" bezeichnet. Gewöhnlich haben Expressionsvektoren, die für DNA-Rekombinationstechniken geeignet sind, die Form von Plasmiden. In der vorliegenden Beschreibung können "Plasmid" und "Vektor" austauschbar verwendet werden; da

15 das Plasmid die am häufigsten verwendete Vektorform ist. Die Erfindung soll jedoch diese anderen Expressionsvektorformen, wie virale Vektoren, die ähnliche Funktionen ausüben, umfassen. Ferner soll der Begriff Vektor auch andere Vektoren, die dem Fachmann bekannt sind, wie Phagen, Viren, wie SV40, CMV, TMV, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Phagemide, Cosmide, lineare oder zirkuläre DNA, umfassen.

20

Die im Verfahren vorteilhaft verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren umfassen die unten beschriebenen Nukleinsäuren oder das oben beschriebene

25 Genkonstrukt in einer Form, die sich zur Expression der verwendeten Nukleinsäuren in einer Wirtszelle eignen, was bedeutet, dass die rekombinanten Expressionsvektoren eine oder mehrere Regulationssequenzen, ausgewählt auf der Basis der zur Expression zu verwendenden Wirtszellen, die mit der zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz funktionsfähig verbunden ist, umfasst. In einem rekombinanten Expressionsvektor

30 bedeutet "funktionsfähig verbunden", dass die Nukleotidsequenz von Interesse derart an die Regulationssequenz(en) gebunden ist, dass die Expression der Nukleotidsequenz möglich ist und sie aneinander gebunden sind, so dass beide Sequenzen die vorhergesagte, der Sequenz zugeschriebene Funktion erfüllen (z.B. in einem In-vitro-Transkriptions-/Translationssystem oder in einer Wirtszelle, wenn der Vektor in die

35 Wirtszelle eingebracht wird). Der Begriff "Regulationssequenz" soll Promotoren, Enhancer und andere Expressionskontrollelemente (z.B. Polyadenylierungssignale) umfassen. Diese Regulationssequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel: Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990), oder siehe: Gruber und Crosby, in: Methods in Plant Molecular Biology and

40 Biotechnology, CRC Press, Boca Raton, Florida, Hrsgb.: Glick und Thompson, Kapitel 7, 89-108, einschließlich der Literaturstellen darin. Regulationssequenzen umfassen solche, welche die konstitutive Expression einer Nukleotidsequenz in vielen Wirtszelltypen steuern, und solche, welche die direkte Expression der Nukleotidsequenz nur in bestimmten Wirtszellen unter bestimmten Bedingungen steuern. Der Fachmann weiß,

dass die Gestaltung des Expressionsvektors von Faktoren, wie der Auswahl der zu transformierenden Wirtszelle, dem Ausmaß der Expression des gewünschten Proteins usw., abhängen kann.

Die verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren können zur Expression von  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\omega$ -3-Desaturasen,  $\Delta$ -9-Elongasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -8-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Elongasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Elongasen und/oder  $\Delta$ -4-Desaturasen in prokaryotischen oder eukaryotischen Zellen gestaltet sein. Dies ist vorteilhaft, da häufig Zwischenschritte der Vektorkonstruktion der Einfachheit halber in Mikroorganismen durchgeführt werden. Beispielsweise können die  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- und/oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Gene in bakteriellen Zellen, Insektenzellen (unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren), Hefe- und anderen Pilzzellen (siehe Romanos, M.A., et al. (1992) "Foreign gene expression in yeast: a review", *Yeast* 8:423-488; van den Hondel, C.A.M.J.J., et al. (1991) "Heterologous gene expression in filamentous fungi", in: *More Gene Manipulations in Fungi*, J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., S. 396-428; Academic Press: San Diego; und van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi", in: *Applied Molecular Genetics of Fungi*, Peberdy, J.F., et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge), Algen (Falcatore et al., 1999, *Marine Biotechnology*, 1, 3:239-251), Ciliaten der Typen: Holotrichia, Peritrichia, Spirotrichia, Suctorina, Tetrahymena, Paramecium, Colpidium, Glaucoma, Platyophrya, Potomacus, Desaturaseudocohnilembus, Euplotes, Engelmanniella und Stylonychia, insbesondere der Gattung Stylonychia lemnae, mit Vektoren nach einem Transformationsverfahren, wie beschrieben in WO 98/01572, sowie bevorzugt in Zellen vielzelliger Pflanzen (siehe Schmidt, R. und Willmitzer, L. (1988) "High efficiency Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants" *Plant Cell Rep.*:583-586; *Plant Molecular Biology and Biotechnology*, C Press, Boca Raton, Florida, Kapitel 6/7, S.71-119 (1993); F.F. White, B. Jené et al., *Techniques for Gene Transfer*, in: *Transgenic Plants*, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-43; Potrykus, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42 (1991), 205-225 (und darin zitierte Literaturstellen)) exprimiert werden. Geeignete Wirtszellen werden ferner erörtert in Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). Der rekombinante Expressionsvektor kann alternativ, zum Beispiel unter Verwendung von T7-Promotor-Regulationssequenzen und T7-Polymerase, in vitro transkribiert und translatiert werden.

Die Expression von Proteinen in Prokaryoten erfolgt meist mit Vektoren, die konstitutive oder induzierbare Promotoren enthalten, welche die Expression von Fusions- oder nicht-Fusionsproteinen steuern. Typische Fusions-Expressionsvektoren sind u.a. pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D.B., und Johnson, K.S. (1988) *Gene* 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) und pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), bei denen Glutathion-S-Transferase (GST), Maltose E-bindendes Protein bzw. Protein A an das rekombinante Zielprotein fusioniert wird.

Beispiele für geeignete induzierbare nicht-Fusions-E. coli-Expressionsvektoren sind u.a. pTrc (Amann et al. (1988) Gene 69:301-315) und pET 11d (Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Kalifornien (1990) 60-89). Die Zielgenexpression vom pTrc-Vektor beruht auf der  
5 Transkription durch Wirts-RNA-Polymerase von einem Hybrid-trp-lac-Fusionspromotor. Die Zielgenexpression aus dem pET 11d-Vektor beruht auf der Transkription von einem T7-gn10-lac-Fusions-Promotor, die von einer coexprimierten viralen RNA-Polymerase (T7 gn1) vermittelt wird. Diese virale Polymerase wird von den Wirtsstämmen BL21 (DE3) oder HMS174 (DE3) von einem residenten  $\lambda$ -Prophagen  
10 bereitgestellt, der ein T7 gn1-Gen unter der Transkriptionskontrolle des lacUV 5-Promotors birgt.

Andere in prokaryotischen Organismen geeignete Vektoren sind dem Fachmann bekannt, diese Vektoren sind beispielsweise in E. coli pLG338, pACYC184, die pBR-Reihe, wie pBR322, die pUC-Reihe, wie pUC18 oder pUC19, die M113mp-Reihe,  
15 pKC30, pRep4, pHS1, pHS2, pPlc236, pMBL24, pLG200, pUR290, pIN-III113-B1,  $\lambda$ gt11 or pBdCl, in Streptomyces pIJ101, pIJ364, pIJ702 oder pIJ361, in Bacillus pUB110, pC194 oder pBD214, in Corynebacterium pSA77 oder pAJ667.

Bei einer weiteren Ausführungsform ist der Expressionsvektor ein Hefe-Expressionsvektor. Beispiele für Vektoren zur Expression in der Hefe *S. cerevisiae* umfassen  
20 pYeDesaturasec1 (Baldari et al. (1987) Embo J. 6:229-234), pMFa (Kurjan und Herskowitz (1982) Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) Gene 54:113-123) sowie pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA). Vektoren und Verfahren zur Konstruktion von Vektoren, die sich zur Verwendung in anderen Pilzen, wie den filamentösen Pilzen, eignen, umfassen diejenigen, die eingehend beschrieben sind in:  
25 van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of fungi, J.F. Peberdy et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge, oder in: More Gene Manipulations in Fungi [J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., S. 396-428: Academic Press: San Diego]. Weitere geeignete Hefevektoren sind beispielsweise pAG-1,  
30 YE<sub>p</sub>6, YE<sub>p</sub>13 oder pEMBL<sub>Y</sub>e23.

Alternativ können die  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\omega$ -3-Desaturasen,  $\Delta$ -9-Elongasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -8-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Elongasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Elongasen und/oder  $\Delta$ -4-Desaturasen in Insektenzellen unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren exprimiert werden. Baculovirus-Vektoren, die zur Expression von  
35 Proteinen in gezüchteten Insektenzellen (z.B. Sf9-Zellen) verfügbar sind, umfassen die pAc-Reihe (Smith et al. (1983) Mol. Cell Biol. 3:2156-2165) und die pVL-Reihe (Lucklow und Summers (1989) Virology 170:31-39).

Die oben genannten Vektoren bieten nur einen kleinen Überblick über mögliche geeignete Vektoren. Weitere Plasmide sind dem Fachmann bekannt und sind zum  
40 Beispiel beschrieben in: Cloning Vectors (Hrsgb. Pouwels, P.H., et al., Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018). Weitere geeignete Expres-



sionssysteme für prokaryotische und eukaryotische Zellen siehe in den Kapiteln 16 und 17 von Sambrook, J., Fritsch, E.F., und Maniatis, T., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.

- 5 Bei einer weiteren Ausführungsform des Verfahrens können die  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\omega$ -3-Desaturasen,  $\Delta$ -9-Elongasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -8-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Elongasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Elongasen und/oder  $\Delta$ -4-Desaturasen in einzelligen Pflanzenzellen (wie Algen), siehe Falciatore et al., 1999, *Marine Biotechnology* 1 (3):239-251 und darin zitierte Literaturangaben, und Pflanzenzellen aus höheren Pflanzen (z.B. 10 Spermatophyten, wie Feldfrüchten) exprimiert werden. Beispiele für Pflanzen-Expressionsvektoren umfassen solche, die eingehend beschrieben sind in: Becker, D., Kemper, E., Schell, J., und Masterson, R. (1992) "New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border", *Plant Mol. Biol.* 20:1195-1197; und Bevan, M.W. (1984) "Binary Agrobacterium vectors for plant transformation", *Nucl. 15 Acids Res.* 12:8711-8721; *Vectors for Gene Transfer in Higher Plants*; in: *Transgenic Plants*, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38.

- Eine Pflanzen-Expressionskassette enthält vorzugsweise Regulationssequenzen, welche die Genexpression in Pflanzenzellen steuern können und funktionsfähig 20 verbunden sind, so dass jede Sequenz ihre Funktion, wie Termination der Transkription, erfüllen kann, beispielsweise Polyadenylierungssignale. Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind diejenigen, die aus *Agrobacterium tumefaciens*-T-DNA stammen, wie das als Octopinsynthese bekannte Gen 3 des Ti-Plasmids pTiACH5 (Gielen et al., *EMBO J.* 3 (1984) 835ff.) oder funktionelle Äquivalente davon, aber auch alle anderen 25 in Pflanzen funktionell aktiven Terminatoren sind geeignet.

- Da die Pflanzengenexpression sehr oft nicht auf Transkriptionsebenen beschränkt ist, enthält eine Pflanzen-Expressionskassette vorzugsweise andere funktionsfähig verbunden Sequenzen, wie Translationenhancer, beispielsweise die Overdrive-Sequenz, welche die 5'-untranslatierte Leader-Sequenz aus Tabakmosaikvirus, die 30 das Protein/RNA-Verhältnis erhöht, enthält (Gallie et al., 1987, *Nucl. Acids Research* 15:8693-8711).

- Die Pflanzengenexpression muss wie oben beschrieben funktionsfähig mit einem geeigneten Promotor verbunden sein, der die Genexpression auf rechtzeitige, zell- oder gewebespezifische Weise durchführt. Nutzbare Promotoren sind konstitutive 35 Promotoren (Benfey et al., *EMBO J.* 8 (1989) 2195-2202), wie diejenigen, die von Pflanzenviren stammen, wie 35S CAMV (Franck et al., *Cell* 21 (1980) 285-294), 19S CaMV (siehe auch US 5352605 und WO 84/02913) oder Pflanzenpromotoren, wie der in US 4,962,028 beschriebene der kleinen Untereinheit der Rubisco.

- Andere bevorzugte Sequenzen für die Verwendung zur funktionsfähigen Verbindung in 40 Pflanzengenexpressions-Kassetten sind Targeting-Sequenzen, die zur Steuerung des Genproduktes in sein entsprechendes Zellkompartiment notwendig sind (siehe eine

- Übersicht in Kermode, Crit. Rev. Plant Sci. 15, 4 (1996) 285-423 und darin zitierte Literaturstellen), beispielsweise in die Vakuole, den Zellkern, alle Arten von Plastiden, wie Amyloplasten, Chloroplasten, Chromoplasten, den extrazellulären Raum, die Mitochondrien, das Endoplasmatische Retikulum, Ölkörper, Peroxisomen und andere Kompartimente von Pflanzenzellen.
- Die Pflanzengenexpression lässt sich auch wie oben beschrieben über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäure-induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.
- Auch Promotoren, die auf biotische oder abiotische Stressbedingungen reagieren, sind geeignete Promotoren, beispielsweise der pathogeninduzierte PRP1-Gen-Promotor (Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993) 361-366), der hitzeinduzierbare hsp80-Promotor aus Tomate (US 5,187,267), der kälteinduzierbare Alpha-Amylase-Promotor aus Kartoffel (WO 96/12814) oder der durch Wunden induzierbare pinII-Promotor (EP-A-0 375 091).
- Es sind insbesondere solche Promotoren bevorzugt, welche die Genexpression in Geweben und Organen herbeiführen, in denen die Fettsäure-, Lipid- und Ölbiogenese stattfindet, in Samenzellen, wie den Zellen des Endosperms und des sich entwickelnden Embryos. Geeignete Promotoren sind der Napingen-Promotor aus Raps (US 5,608,152), der USP-Promotor aus Vicia faba (Baeumlein et al., Mol Gen Genet, 1991, 225 (3):459-67), der Oleosin-Promotor aus Arabidopsis (WO 98/45461), der Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris (US 5,504,200), der Bce4-Promotor aus Brassica (WO 91/13980) oder der Legumin-B4-Promotor (LeB4; Baeumlein et al., 1992, Plant Journal, 2 (2):233-9) sowie Promotoren, welche die samenspezifische Expression in Monokotyledonen-Pflanzen, wie Mais, Gerste, Weizen, Roggen, Reis usw. herbeiführen. Geeignete beachtenswerte Promotoren sind der lpt2- oder lpt1-Gen-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230) oder die in WO 99/16890 beschriebenen (Promotoren aus dem Gersten-Hordein-Gen, dem Reis-Glutelin-Gen, dem Reis-Oryzin-Gen, dem Reis-Prolamin-Gen, dem Weizen-Gliadin-Gen, Weizen-Glutelin-Gen, dem Mais-Zein-Gen, dem Hafer-Glutelin-Gen, dem Sorghum-Kasirin-Gen, dem Roggen-Secalin-Gen).
- Insbesondere kann die multiparallele Expression der im Verfahren verwendeten  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\omega$ -3-Desaturasen,  $\Delta$ -9-Elongasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -8-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Elongasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Elongasen und/oder  $\Delta$ -4-Desaturasen gewünscht sein. Die Einführung solcher Expressionskassetten kann über eine simultane Transformation mehrerer einzelner Expressionskonstrukte erfolgen oder bevorzugt durch Kombination mehrerer Expressionskassetten auf einem Konstrukt. Auch können

mehrere Vektoren mit jeweils mehreren Expressionskassetten transformiert und auf die Wirtszelle übertragen werden.

5 Ebenfalls besonders geeignet sind Promotoren, welche die plastidenspezifische Expression herbeiführen, da Plastiden das Kompartiment sind, in dem die Vorläufer sowie einige Endprodukte der Lipidbiosynthese synthetisiert werden. Geeignete Promotoren, wie der virale RNA-Polymerase-Promotor, sind beschrieben in WO 95/16783 und WO 97/06250, und der *clpP*-Promotor aus *Arabidopsis*, beschrieben in WO 99/46394.

10 Vektor-DNA lässt sich in prokaryotische oder eukaryotische Zellen über herkömmliche Transformations- oder Transfektionstechniken einbringen. Die Begriffe "Transformation" und "Transfektion", Konjugation und Transduktion, wie hier verwendet, sollen eine Vielzahl von im Stand der Technik bekannten Verfahren zum Einbringen fremder Nukleinsäure (z.B. DNA) in eine Wirtszelle, einschließlich Calciumphosphat- oder Calciumchlorid-Coprazipitation, DEAE-Dextran-vermittelte Transfektion, Lipofektion, 15 natürliche Kompetenz, chemisch vermittelter Transfer, Elektroporation oder Teilchenbeschuss, umfassen. Geeignete Verfahren zur Transformation oder Transfektion von Wirtszellen, einschließlich Pflanzenzellen, lassen sich finden in Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual., 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) und anderen 20 Labor-Handbüchern, wie Methods in Molecular Biology, 1995, Bd. 44, Agrobacterium protocols, Hrsgb: Gartland und Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey.

Wirtszellen, die im Prinzip zum Aufnehmen der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, des erfindungsgemäßen Genproduktes oder des erfindungsgemäßen Vektors geeignet sind, sind alle prokaryotischen oder eukaryotischen Organismen. Die vorteilhafterweise 25 verwendeten Wirtsorganismen sind Mikroorganismen, wie Pilze oder Hefen oder Pflanzenzellen vorzugsweise Pflanzen oder Teile davon. Pilze, Hefen oder Pflanzen werden vorzugsweise verwendet, besonders bevorzugt Pflanzen, ganz besonders bevorzugt Pflanzen, wie Ölfruchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten, wie Raps, Nachtkerze, Hanf, Diestel, Erdnuss, Canola, Lein, Soja, Saflor, 30 Sonnenblume, Borretsch, oder Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa, Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss) sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte. Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind 35 Ölfruchtpflanzen, wie Soja, Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Hanf, Nachtkerze, Sonnenblume, Saflor, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss).

Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind wie oben beschrieben isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongase-Aktivität codieren, wobei die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten Elongase  $C_{16}$ - und  $C_{18}$ - Fettsäuren mit 40 einer Doppelbindung und vorteilhaft mehrfach ungesättigte  $C_{18}$ -Fettsäuren mit einer

$\Delta 6$ -Doppelbindung und mehrfach ungesättigte  $C_{20}$ -Fettsäuren mit einer  $\Delta 5$ -Doppelbindung umgesetzt.  $C_{22}$ -Fettsäuren werden nicht elongiert.

- Vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta 5$ -Elongaseaktivität codieren und die eine Aminosäuresequenz enthalten ausgewählt aus der Gruppe einer Aminosäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141 oder SEQ ID NO: 142 dargestellten Sequenz.

- Weitere vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta 5$ -Elongaseaktivität codieren und die eine Kombination der Aminosäuresequenzen enthalten ausgewählt aus der Gruppe:

- a) SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140; oder
- b) SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 142 oder SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142; oder
- c) SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142.

Bevorzugte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta 5$ -Elongaseaktivität codieren enthalten vorteilhaft die vorgenannten Aminosäuresequenzen. Diese werden in Tabelle 2 näher beschrieben.

- Besonders vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Sequenz,
  - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
  - c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäuresequenz

reebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 aufweisen und eine  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität aufweisen.

Weitere Erfindungsgegenstände sind die im folgenden aufgezählten Nukleinsäuresequenzen, die für  $\Delta$ -6-Elongasen,  $\omega$ -3-Desaturasen,  $\Delta$ -6-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen,  $\Delta$ -4-Desaturasen oder  $\Delta$ -12-Desaturasen codieren.

Weitere vorteilhafte isolierte Nukleinsäuresequenzen sind Sequenzen ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 111 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 112 oder SEQ ID NO: 184 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 111 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 112 oder SEQ ID NO: 184 codieren und eine  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität aufweisen.

Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\omega$ -3-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 aufweisen und eine  $\omega$ -3-Desaturaseaktivität aufweisen.

Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -6-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 89 oder in SEQ ID NO: 97 dargestellten Sequenz,

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 89 oder SEQ ID NO: 97 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 codieren und eine  $\Delta$ -6-Desaturaseaktivität aufweisen.
- Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- 10 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 15 c) Derivate der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 codieren und eine  $\Delta$ -5-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 20 Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 95 oder in SEQ ID NO: 103 dargestellten Sequenz,
- 25 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 95 oder SEQ ID NO: 103 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 codieren und eine  $\Delta$ -6-
- 30 Desaturaseaktivität aufweisen.
- Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -12-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder in SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz,

- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 5 c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 50 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine  $\Delta$ -12-Desaturaseaktivität aufweisen.

Die oben genannte erfindungsgemäßen Nukleinsäuren stammen von Organismen, wie nicht-humanen Tieren, Ciliaten, Pilzen, Pflanzen wie Algen oder Dinoflagellaten, die PUFAs synthetisieren können.

Vorteilhaft stammen die isolierten oben genannten Nukleinsäuresequenzen aus der Ordnung Salmoniformes, Xenopus oder Ciona, den Diatomeengattungen Thalassiosira oder Crythecodinium oder aus der Familie der Prasinophyceae wie der Gattung Ostreococcus oder der Familie Euglenaceae wie der Gattung Euglena oder Pythiaceae wie der Gattung Phytophthora stammt.

Ein weiterer erfindungsgemäßer Gegenstand sind wie oben beschrieben isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit  $\omega$ -3-Desaturase-Aktivität codieren, wobei die durch die Nukleinsäuresequenzen codierten  $\omega$ -3-Desaturasen C<sub>18</sub>-, C<sub>20</sub>- und C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen und vorteilhaft mehrfach ungesättigte C<sub>18</sub>-Fettsäuren mit zwei oder drei Doppelbindungen und mehrfach ungesättigte C<sub>20</sub>-Fettsäuren mit zwei, drei oder vier Doppelbindungen umsetzt. Auch C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit vier oder fünf Doppelbindungen werden desaturiert.

Zu den erfindungsgemäßen Gegenständen gehören außerdem, wie oben beschrieben, isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\Delta$ -4-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen und  $\Delta$ -6-Desaturasen codieren, wobei die durch diese Nukleinsäuresequenzen codierten  $\Delta$ -12-Desaturasen,  $\Delta$ -4-Desaturasen,  $\Delta$ -5-Desaturasen oder  $\Delta$ -6-Desaturasen C<sub>18</sub>-, C<sub>20</sub>- und C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit ein, zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen und vorteilhaft mehrfach ungesättigte C<sub>18</sub>-Fettsäuren mit ein, zwei oder drei Doppelbindungen wie C<sub>18</sub>:1 <sup>$\Delta$ 9</sup>, C<sub>18</sub>:2 <sup>$\Delta$ 9,12</sup> oder C<sub>18</sub>:3 <sup>$\Delta$ 9,12,15</sup>, mehrfach ungesättigte C<sub>20</sub>-Fettsäuren mit drei oder vier Doppelbindungen wie C<sub>20</sub>:3 <sup>$\Delta$ 8,11,14</sup> oder C<sub>20</sub>:4 <sup>$\Delta$ 8,11,14,17</sup> oder mehrfach ungesättigte C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit vier oder fünf Doppelbindungen wie C<sub>22</sub>:4 <sup>$\Delta$ 7,10,13,16</sup> oder C<sub>22</sub>:5 <sup>$\Delta$ 7,10,13,16,19</sup> umsetzen. Vorteilhaft werden die Fettsäuren in den Phospholipiden oder CoA-Fettsäureestern desaturiert, vorteilhaft in den CoA-Fettsäureester.

Der Begriff "Nukleinsäure(molekül)", wie hier verwendet, umfasst in einer vorteilhaften Ausführungsform zudem die am 3'- und am 5'-Ende des kodierenden Genbereichs gelegene untranslatierte Sequenz: mindestens 500, bevorzugt 200, besonders bevorzugt 100 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes des kodierenden Bereichs und mindestens 100, bevorzugt 50, besonders bevorzugt 20 Nukleotide der Sequenz stromabwärts des 3'-Endes des kodierenden Genbereichs. Ein "isoliertes"

Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure vorliegen. Eine "isolierte" Nukleinsäure hat vorzugsweise keine Sequenzen, welche die Nukleinsäure in der genomischen DNA des Organismus, aus dem die Nukleinsäure stammt, natürlicherweise flankieren (z.B. Sequenzen, die sich an den 5'- und 3'-Enden der Nukleinsäure befinden). Bei verschiedenen Ausführungsformen kann das isolierte  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturasemolekül zum Beispiel weniger als etwa 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb oder 0,1 kb an Nukleotidsequenzen enthalten, die natürlicherweise das Nukleinsäuremolekül in der genomischen DNA der Zelle, aus der die Nukleinsäure stammt flankieren.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuremoleküle, z.B. ein Nukleinsäuremolekül mit einer Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 oder eines Teils davon, kann unter Verwendung molekularbiologischer Standardtechniken und der hier bereitgestellten Sequenzinformation isoliert werden. Auch kann Mithilfe von Vergleichsalgorithmen beispielsweise eine homologe Sequenz oder homologe, konservierte Sequenzbereiche auf DNA oder Aminosäureebene identifiziert werden. Diese können als Hybridisierungssonde sowie Standard-Hybridisierungstechniken (wie z.B. beschrieben in Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) zur Isolierung weiterer im Verfahren nützlicher Nukleinsäuresequenzen verwendet werden. Überdies lässt sich ein Nukleinsäuremolekül, umfassend eine vollständige Sequenz der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID



NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 oder einen Teil davon, durch Polymerasekettenreaktion isolieren, wobei

5 Oligonukleotidprimer, die auf der Basis dieser Sequenz oder von Teilen davon, verwendet werden (z.B. kann ein Nukleinsäuremolekül, umfassend die vollständigen Sequenz oder einen Teil davon, durch Polymerasekettenreaktion unter Verwendung von Oligonukleotidprimern isoliert werden, die auf der Basis dieser gleichen Sequenz

10 das Guanidiniumthiocyanat-Extraktionsverfahren von Chirgwin et al. (1979) Biochemistry 18:5294-5299) und cDNA mittels Reverser Transkriptase (z.B. Moloney-MLV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Gibco/BRL, Bethesda, MD, oder AMV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Seikagaku America, Inc., St. Petersburg, FL) herstellen. Synthetische Oligonukleotidprimer zur Amplifizierung mittels Polymerasekettenreaktion

15 lassen sich auf der Basis einer der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID

20 NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID

25 NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 gezeigten Sequenzen oder Mithilfe der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO:

30 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72,

35 SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID

40 NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138 oder SEQ ID NO: 184 dargestellten Aminosäuresequenzen erstellen. Eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kann unter Verwendung von cDNA oder alternativ von genomischer DNA als Matrize und geeigneten Oligonukleotidprimern gemäß Standard-PCR-Amplifikationstechniken amplifiziert werden. Die so amplifizierte Nukleinsäure kann in einen geeigneten Vektor kloniert

45 werden und mittels DNA-Sequenzanalyse charakterisiert werden. Oligonukleotide, die

einer Desaturase-Nukleotidsequenz entsprechen, können durch Standard-Syntheseverfahren, beispielsweise mit einem automatischen DNA-Synthesegerät, hergestellt werden.

- Homologe der verwendeten  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Nukleinsäuresequenzen mit der Sequenz SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 bedeutet beispielsweise allelische Varianten mit mindestens etwa 50 oder 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 oder 70 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 oder 80 %, 90 % oder 95 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr Identität bzw. Homologie zu einer in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 gezeigten Nukleotidsequenzen oder ihren Homologen, Derivaten oder Analoga oder Teilen davon. Weiterhin sind isolierte Nukleinsäuremoleküle einer Nukleotidsequenz, die an eine der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID

NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 gezeigten Nukleotidsequenzen oder einen Teil davon hybridisieren, z.B. unter stringenten Bedingungen hybridisiert. Unter einem Teil gemäß der Erfindung ist dabei zu verstehen, dass mindestens 25 Basenpaare (= bp), 50 bp, 75 bp, 100 bp, 125 bp oder 150 bp, bevorzugt mindestens 175 bp, 200 bp, 225 bp, 250 bp, 275 bp oder 300 bp, besonders bevorzugt 350 bp, 400 bp, 450 bp, 500 bp oder mehr Basenpaare für die Hybridisierung verwendet werden. Es kann auch vorteilhaft die Gesamtsequenz verwendet werden. Allelische Varianten umfassen insbesondere funktionelle Varianten, die sich durch Deletion, Insertion oder Substitution von Nukleotiden aus/in der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Sequenz erhalten lassen, wobei aber die Absicht ist, dass die Enzymaktivität der davon herrührenden synthetisierten Proteine für die Insertion eines oder mehrerer Gene vorteilhafterweise beibehalten wird. Proteine, die noch die enzymatische Aktivität der  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -9-Elongase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -8-Desaturase,  $\Delta$ -6-Elongase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase oder  $\Delta$ -4-Desaturase besitzen, das heißt deren Aktivität im wesentlichen nicht reduziert ist, bedeutet Proteine mit mindestens 10 %, vorzugsweise 20 %, besonders bevorzugt 30 %, ganz besonders bevorzugt 40 % der ursprünglichen Enzymaktivität, verglichen mit dem durch SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ

ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 kodierten Protein. Die Homologie wurde über den gesamten Aminosäure- bzw. Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für das Vergleichen verschiedener Sequenzen stehen dem Fachmann eine Reihe von Programmen, die auf verschiedenen Algorithmen beruhen zur Verfügung. Dabei liefern die Algorithmen von Needleman und Wunsch oder Smith und Waterman besonders zuverlässige Ergebnisse. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))], die im GCG Software-Paket [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in Prozent angegebenen Sequenzhomologiewerte wurden mit dem Programm GAP über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Die falls nicht anders angegeben als Standardeinstellungen immer für Sequenzvergleiche verwendet wurden.

Homologen der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 bedeuten beispielsweise auch bakterielle, Pilz- und Pflanzenhomologen, verkürzte Sequenzen, einzelsträngige DNA oder RNA der kodierenden und nicht-kodierenden DNA-Sequenz.

Homologen der SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO:

- 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 bedeutet auch Derivate, wie beispielsweise Promotorvarianten. Die Promotoren stromaufwärts der angegebenen Nukleotidsequenzen können durch einen oder mehrere Nukleotidaustausche, durch
- 5 Insertion(en) und/oder Deletion(en) modifiziert werden, ohne dass jedoch die Funktionalität oder Aktivität der Promotoren gestört wird. Es ist weiterhin möglich, dass die Aktivität der Promotoren durch Modifikation ihrer Sequenz erhöht ist oder dass sie vollständig durch aktivere Promotoren, sogar aus heterologen Organismen, ersetzt werden.
- 10 Die vorgenannten Nukleinsäuren und Proteinmoleküle mit  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- und/oder  $\Delta$ -4-Desaturase-Aktivität, die am Stoffwechsel von Lipiden und Fettsäuren, PUFA-Cofaktoren und Enzymen oder am Transport lipophiler Verbindungen über Membranen beteiligt sind, werden im erfindungsgemäßen
- 15 Verfahren zur Modulation der Produktion von PUFAs in transgenen Organismen vorteilhaft in Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Linum Arten wie Öl- oder Faserlein, Brassica-Arten, wie Raps, Canola und Rübsen, Pfeffer, Sonnenblume, Borretsch, Nachtkerze und Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-
- 20 Arten, Erbse, Maniok, Alfalfa, Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss) und ausdauernden Gräsern und Futterfeldfrüchten, entweder direkt (z.B. wenn die Überexpression oder Optimierung eines Fettsäurebiosynthese-Proteins einen direkten Einfluss auf die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der Fettsäure aus modifizierten Organismen hat) verwendet und/oder
- 25 können eine indirekt Auswirkung haben, die dennoch zu einer Steigerung der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der PUFAs oder einer Abnahme unerwünschter Verbindungen führt (z.B. wenn die Modulation des Stoffwechsels von Lipiden und Fettsäuren, Cofaktoren und Enzymen zu Veränderungen der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion oder der Zusammensetzung der ge-
- 30 wünschten Verbindungen innerhalb der Zellen führt, was wiederum die Produktion einer oder mehrerer Fettsäuren beeinflussen kann).
- Die Kombination verschiedener Vorläufermoleküle und Biosyntheseeenzyme führt zur Herstellung verschiedener Fettsäuremoleküle, was eine entscheidende Auswirkung auf die Zusammensetzung der Lipide hat. Da mehrfach ungesättigte Fettsäuren (= PUFAs)
- 35 nicht nur einfach in Triacylglycerin sondern auch in Membranlipide eingebaut werden.
- Besonders zur Herstellung von PUFAs, beispielsweise Stearidonsäure, Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure eignen sich Brassicaceae, Boraginaceen, Primulaceen, oder Linaceen. Besonders vorteilhaft eignet sich Lein (*Linum usitatissimum*) zur Herstellung von PUFAs mit dem erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen
- 40 vorteilhaft, wie beschrieben, in Kombination mit weiteren Desaturasen und Elongasen.

Die Lipidsynthese lässt sich in zwei Abschnitte unterteilen: die Synthese von Fettsäuren und ihre Bindung an sn-Glycerin-3-Phosphat sowie die Addition oder Modifikation einer polaren Kopfgruppe. Übliche Lipide, die in Membranen verwendet werden, umfassen Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide und Phosphoglyceride. Die Fettsäuresynthese beginnt mit der Umwandlung von Acetyl-CoA in Malonyl-CoA durch die Acetyl-CoA-Carboxylase oder in Acetyl-ACP durch die Acetyltransacylase. Nach einer Kondensationsreaktion bilden diese beiden Produktmoleküle zusammen Acetoacetyl-ACP, das über eine Reihe von Kondensations-, Reduktions- und Dehydratisierungsreaktionen umgewandelt wird, so dass ein gesättigtes Fettsäuremolekül mit der gewünschten Kettenlänge erhalten wird. Die Produktion der ungesättigten Fettsäuren aus diesen Molekülen wird durch spezifische Desaturasen katalysiert, und zwar entweder aerob mittels molekularem Sauerstoff oder anaerob (bezüglich der Fettsäuresynthese in Mikroorganismen siehe F.C. Neidhardt et al. (1996) *E. coli* und *Salmonella*. ASM Press: Washington, D.C., S. 612-636 und darin enthaltene Literaturstellen; Lengeler et al. (Hrsgb.) (1999) *Biology of Prokaryotes*. Thieme: Stuttgart, New York, und die enthaltene Literaturstellen, sowie Magnuson, K., et al. (1993) *Microbiological Reviews* 57:522-542 und die enthaltenen Literaturstellen). Die so hergestellten an Phospholipide gebundenen Fettsäuren müssen anschließend wieder für die weitere Elongationen aus den Phospholipiden in den FettsäureCoA-Ester-Pool überführt werden. Dies ermöglichen Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen. Weiterhin können diese Enzyme die elongierten Fettsäuren wieder von den CoA-Estern auf die Phospholipide übertragen. Diese Reaktionsabfolge kann gegebenenfalls mehrfach durchlaufen werden.

Vorläufer für die PUFA-Biosynthese sind beispielsweise Ölsäure, Linol- und Linolensäure. Diese C<sub>18</sub>-Kohlenstoff-Fettsäuren müssen auf C<sub>20</sub> und C<sub>22</sub> verlängert werden, damit Fettsäuren vom Eicosa- und Docosa-Kettentyp erhalten werden. Mithilfe der im Verfahren verwendeten Desaturasen wie der  $\Delta$ -12-,  $\omega$ 3-,  $\Delta$ -4-,  $\Delta$ -5-,  $\Delta$ -6- und  $\Delta$ -8-Desaturasen und/oder der  $\Delta$ -5-,  $\Delta$ -6-,  $\Delta$ -9-Elongasen können Arachidonsäure, Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure oder Docosahexaensäure vorteilhaft hergestellt werden und anschließend für verschiedene Zwecke bei Nahrungsmittel-, Futter-, Kosmetik- oder pharmazeutischen Anwendungen verwendet werden. Mit den genannten Enzymen können C<sub>20</sub>- und/oder C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit mindestens zwei vorteilhaft mindestens drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise C<sub>20</sub>- oder C<sub>22</sub>-Fettsäuren mit vorteilhaft vier, fünf oder sechs Doppelbindungen im Fettsäuremolekül hergestellt werden. Die Desaturierung kann vor oder nach Elongation der entsprechenden Fettsäure erfolgen. Daher führen die Produkte der Desaturaseaktivitäten und der möglichen weiteren Desaturierung und Elongation zu bevorzugten PUFAs mit höherem Desaturierungsgrad, einschließlich einer weiteren Elongation von C<sub>20</sub> zu C<sub>22</sub>-Fettsäuren, zu Fettsäuren wie  $\gamma$ -Linolensäure, Dihomo- $\gamma$ -linolensäure, Arachidonsäure, Stearidonsäure, Eicosatetraensäure oder Eicosapentaensäure. Substrate der verwendeten Desaturasen und Elongasen im erfindungsgemäßen Verfahren sind C<sub>16</sub>-, C<sub>18</sub>- oder C<sub>20</sub>-Fettsäuren wie zum Beispiel Linolsäure,  $\gamma$ -Linolensäure,  $\alpha$ -Linolensäure, Dihomo- $\gamma$ -linolensäure, Eicosatetraensäure oder Stearidonsäure. Bevorzugte Sub-

strate sind Linolsäure,  $\gamma$ -Linolensäure und/oder  $\alpha$ -Linolensäure, Dihomo- $\gamma$ -linolensäure bzw. Arachidonsäure, Eicosatetraensäure oder Eicosapentaensäure. Die synthetisierten  $C_{20}$ - oder  $C_{22}$ -Fettsäuren mit mindestens zwei, drei, vier, fünf oder sechs Doppelbindungen in der Fettsäure fallen im erfindungsgemäßen Verfahren in Form der freien Fettsäure oder in Form ihrer Ester beispielsweise in Form ihrer Glyceride an.

Unter dem Begriff "Glycerid" wird ein mit ein, zwei oder drei Carbonsäureresten verestertes Glycerin verstanden (Mono-, Di- oder Triglycerid). Unter "Glycerid" wird auch ein Gemisch an verschiedenen Glyceriden verstanden. Das Glycerid oder das Glyceridgemisch kann weitere Zusätze, z.B. freie Fettsäuren, Antioxidantien, Proteine, Kohlenhydrate, Vitamine und/oder andere Substanzen enthalten.

Unter einem "Glycerid" im Sinne des erfindungsgemäßen Verfahrens werden ferner vom Glycerin abgeleitete Derivate verstanden. Dazu zählen neben den oben beschriebenen Fettsäureglyceriden auch Glycerophospholipide und Glyceroglycolipide. Bevorzugt seien hier die Glycerophospholipide wie Lecithin (Phosphatidylcholin), Cardiolipin, Phosphatidylglycerin, Phosphatidylserin und Alkylacylglycerophospholipide beispielhaft genannt.

Ferner müssen Fettsäuren anschließend an verschiedene Modifikationsorte transportiert und in das Triacylglycerin-Speicherlipid eingebaut werden. Ein weiterer wichtiger Schritt bei der Lipidsynthese ist der Transfer von Fettsäuren auf die polaren Kopfgruppen, beispielsweise durch Glycerin-Fettsäure-Acyltransferase (siehe Frentzen, 1998, Lipid, 100(4-5):161-166).

Veröffentlichungen über die Pflanzen-Fettsäurebiosynthese, Desaturierung, den Lipidstoffwechsel und Membrantransport von fetthaltigen Verbindungen, die Betaoxidation, Fettsäuremodifikation und Cofaktoren, Triacylglycerin-Speicherung und -Assemblierung einschließlich der Literaturstellen darin siehe in den folgenden Artikeln: Kinney, 1997, Genetic Engineering, Hrsgb.: JK Setlow, 19:149-166; Ohlrogge und Browse, 1995, Plant Cell 7:957-970; Shanklin und Cahoon, 1998, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49:611-641; Voelker, 1996, Genetic Engineering, Hrsgb.: JK Setlow, 18:111-13; Gerhardt, 1992, Prog. Lipid R. 31:397-417; Gühnemann-Schäfer & Kindl, 1995, Biochim. Biophys Acta 1256:181-186; Kunau et al., 1995, Prog. Lipid Res. 34:267-342; Stymne et al., 1993, in: Biochemistry and Molecular Biology of Membrane and Storage Lipids of Plants, Hrsgb.: Murata und Somerville, Rockville, American Society of Plant Physiologists, 150-158, Murphy & Ross 1998, Plant Journal. 13(1):1-16.

Die im Verfahren hergestellten PUFAs, umfassen eine Gruppe von Molekülen, die höhere Tiere nicht mehr synthetisieren können und somit aufnehmen müssen oder die höhere Tiere nicht mehr ausreichend selbst herstellen können und somit zusätzlich aufnehmen müssen, obwohl sie leicht von anderen Organismen, wie Bakterien, synthetisiert werden, beispielsweise können Katzen Arachidonsäure nicht mehr synthetisieren.

Unter Phospholipiden im Sinne der Erfindung sind zu verstehen Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerin und/oder Phosphatidylinositol vorteilhafterweise Phosphatidylcholin. Die Begriffe Produktion oder Produktivität sind im Fachgebiet bekannt und beinhalten die Konzentration des Fermentationsproduktes (Verbindungen der Formel I), das in einer bestimmten Zeitspanne und einem bestimmten Fermentationsvolumen gebildet wird (z.B. kg Produkt pro Stunde pro Liter). Es umfasst auch die Produktivität innerhalb einer Pflanzenzelle oder einer Pflanze, das heißt den Gehalt an den gewünschten im Verfahren hergestellten Fettsäuren bezogen auf den Gehalt an allen Fettsäuren in dieser Zelle oder Pflanze. Der Begriff Effizienz der Produktion umfasst die Zeit, die zur Erzielung einer bestimmten Produktionsmenge nötig ist (z.B. wie lange die Zelle zur Aufrichtung einer bestimmten Durchsatzrate einer Feinchemikalie benötigt). Der Begriff Ausbeute oder Produkt/Kohlenstoff-Ausbeute ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die Effizienz der Umwandlung der Kohlenstoffquelle in das Produkt (d.h. die Feinchemikalie). Dies wird gewöhnlich beispielsweise ausgedrückt als kg Produkt pro kg Kohlenstoffquelle. Durch Erhöhen der Ausbeute oder Produktion der Verbindung wird die Menge der gewonnenen Moleküle oder der geeigneten gewonnenen Moleküle dieser Verbindung in einer bestimmten Kulturmenge über einen festgelegten Zeitraum erhöht. Die Begriffe Biosynthese oder Biosyntheseweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Synthese einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle aus Zwischenverbindungen, beispielsweise in einem Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Die Begriffe Abbau oder Abbauweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Spaltung einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle in Abbauprodukte (allgemeiner gesagt, kleinere oder weniger komplexe Moleküle) beispielsweise in einem Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Der Begriff Stoffwechsel ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die Gesamtheit der biochemischen Reaktionen, die in einem Organismus stattfinden. Der Stoffwechsel einer bestimmten Verbindung (z.B. der Stoffwechsel einer Fettsäure) umfasst dann die Gesamtheit der Biosynthese-, Modifikations- und Abbauwege dieser Verbindung in der Zelle, die diese Verbindung betreffen.

Bei einer weiteren Ausführungsform kodieren Derivate des erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküls wieder gegeben in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 Proteine mit mindestens 40 %, vorteilhaft etwa 50 oder 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 oder 70 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 oder 80 %, 80 bis 90 %, 90 bis 95 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr Homologie (= Identität) zu einer vollständigen Aminosäuresequenz der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID



NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134 oder SEQ ID NO: 184. Die Homologie wurde über den gesamten Aminosäure- bzw. Nukleinsäuresequenzbereich berechnet. Für die Sequenzvergleiche wurde das Programm PileUp verwendet (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5 1989: 151-153) oder die Programme Gap und BestFit [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. 48; 443-453 (1970) und Smith and Waterman (Adv. Appl. Math. 2; 482-489 (1981))], die im GCG Software-Packet [Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711 (1991)] enthalten sind. Die oben in Prozent angegebenen Sequenzhomologiewerte wurden mit dem Programm BestFit über den gesamten Sequenzbereich mit folgenden Einstellungen ermittelt: Gap Weight: 50, Length Weight: 3, Average Match: 10.000 und Average Mismatch: 0.000. Die falls nicht anders angegeben als Standardeinstellungen immer für Sequenzvergleiche verwendet wurden.

Die Erfindung umfasst zudem Nukleinsäuremoleküle, die sich von einer der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 gezeigten Nukleotidsequenzen (und Teilen davon) aufgrund des degenerierten genetischen Codes unterscheiden und somit die gleiche  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -6-Elongase oder  $\Delta$ -5-Elongase codieren wie diejenige, die von den in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 gezeigten Nukleotidsequenzen kodiert wird.

Zusätzlich zu den in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 gezeigten  $\Delta$ -12-

- Desaturasasen,  $\omega$ -3-Desaturasasen,  $\Delta$ -5-Elongasen,  $\Delta$ -6-Desaturasasen,  $\Delta$ -5-Desaturasasen,  $\Delta$ -4-Desaturasasen oder  $\Delta$ -6-Elongasen erkennt der Fachmann, dass DNA-Sequenzpolymorphismen, die zu Änderungen in den Aminosäuresequenzen der  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase und/oder  $\Delta$ -6-Elongase führen, innerhalb einer Population existieren können. Diese genetischen Polymorphismen im  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase- und/oder  $\Delta$ -6-Elongase-Gen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund von natürlicher Variation existieren. Diese natürlichen Varianten bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz des  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase- und/oder  $\Delta$ -6-Elongase-Gens. Sämtliche und alle dieser Nukleotidvariationen und daraus resultierende Aminosäurepolymorphismen in der  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase und/oder  $\Delta$ -6-Elongase, die das Ergebnis natürlicher Variation sind und die funktionelle Aktivität von nicht verändern, sollen im Umfang der Erfindung enthalten sein.

- Für das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhafte Nukleinsäuremoleküle können auf der Grundlage ihrer Homologie zu den hier offenbarten  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase- und/oder  $\Delta$ -6-Elongase-Nukleinsäuren unter Verwendung der Sequenzen oder eines Teils davon als Hybridisierungssonde gemäß Standard-Hybridisierungstechniken unter stringenten Hybridisierungsbedingungen isoliert werden. Dabei können beispielsweise isolierte Nukleinsäuremoleküle verwendet werden, die mindestens 15 Nukleotide lang sind und unter stringenten Bedingungen mit dem Nukleinsäuremolekülen, die eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 umfassen, hybridisieren. Es können auch Nukleinsäuren mindestens 25, 50, 100, 250 oder mehr Nukleotide verwendet werden. Der Begriff "hybridisiert unter stringenten Bedingungen", wie hier verwendet, soll Hybridisierungs- und Waschbedingungen beschreiben, unter denen Nukleotidsequenzen, die mindestens 60 % homolog zueinander sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Die Bedingungen sind vorzugsweise derart, dass Sequenzen, die mindestens etwa 65 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 75 % oder stärker zueinander homolog sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Diese stringenten Bedingungen sind dem Fachmann bekannt und lassen sich in Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6., finden. Ein bevorzugtes, nicht einschränkendes Beispiel für stringente Hybridisierungsbedingungen sind Hybridisierungen in 6 x Natriumchlorid/Natriumcitrat (sodium chloride/sodium citrate = SSC) bei etwa 45°C, gefolgt von einem oder mehreren Waschschritten in 0,2 x SSC, 0,1 % SDS bei 50 bis

- 65°C. Dem Fachmann ist bekannt, dass diese Hybridisierungsbedingungen sich je nach dem Typ der Nukleinsäure und, wenn beispielsweise organische Lösungsmittel vorliegen, hinsichtlich der Temperatur und der Konzentration des Puffers unterscheiden. Die Temperatur unterscheidet sich beispielsweise unter "Standard-
- 5 Hybridisierungsbedingungen" je nach dem Typ der Nukleinsäure zwischen 42°C und 58°C in wässrigem Puffer mit einer Konzentration von 0,1 bis 5 x SSC (pH 7,2). Falls organisches Lösungsmittel im obengenannten Puffer vorliegt, zum Beispiel 50 % Formamid, ist die Temperatur unter Standardbedingungen etwa 42°C. Vorzugsweise sind die Hybridisierungsbedingungen für DNA:DNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 20°C bis 45°C, vorzugsweise zwischen 30°C und 45°C. Vorzugsweise sind die
- 10 Hybridisierungsbedingungen für DNA:RNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 30°C bis 55°C, vorzugsweise zwischen 45°C und 55°C. Die vorstehend genannten Hybridisierungstemperaturen sind beispielsweise für eine Nukleinsäure mit etwa 100 bp (= Basenpaare) Länge und einem G + C-Gehalt von 50 % in Abwesenheit von Formamid bestimmt. Der Fachmann weiß, wie die erforderlichen Hybridisierungsbedingungen anhand von Lehrbüchern, wie dem vorstehend erwähnten oder aus den folgenden Lehrbüchern Sambrook et al., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989; Hames und Higgins (Hrsgb.) 1985, "Nucleic Acids Hybridization: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford; Brown (Hrsgb.) 1991,
- 20 "Essential Molecular Biology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford, bestimmt werden können.

- Zur Bestimmung der prozentualen Homologie (= Identität) von zwei Aminosäuresequenzen (z.B. einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66,
- 25 SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134 oder SEQ ID NO: 184)
- 30 oder von zwei Nukleinsäuren (z.B. SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79; SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99,
- 35 SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183)
- werden die Sequenzen zum Zweck des optimalen Vergleichs untereinander geschrieben (z.B. können Lücken in die Sequenz eines Proteins oder einer Nukleinsäure eingefügt werden, um ein optimales Alignment mit dem anderen Protein oder der
- 40 anderen Nukleinsäure zu erzeugen). Die Aminosäurereste oder Nukleotide an den entsprechenden Aminosäurepositionen oder Nukleotidpositionen werden dann verglichen. Wenn eine Position in einer Sequenz durch den gleichen Aminosäurerest oder das gleiche Nukleotid wie die entsprechende Stelle in der anderen Sequenz belegt wird, dann sind die Moleküle an dieser Position homolog (d.h. Aminosäure- oder

Nukleinsäure-"Homologie", wie hier verwendet, entspricht Aminosäure- oder Nukleinsäure-"Identität"). Die prozentuale Homologie zwischen den beiden Sequenzen ist eine Funktion der Anzahl an identischen Positionen, die den Sequenzen gemeinsam sind (d.h. % Homologie = Anzahl der identischen Positionen/Gesamtanzahl der Positionen x 100). Die Begriffe Homologie und Identität sind damit als Synonym anzusehen. Die verwendeten Programme bzw. Algorithmen sind oben beschrieben.

Ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, das für eine  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase und/oder  $\Delta$ -6-Elongase kodiert, die zu einer Proteinsequenz der SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134 oder SEQ ID NO: 184 homolog ist, kann durch Einbringen einer oder mehrerer Nukleotidsubstitutionen, -additionen oder -deletionen in eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 erzeugt werden, so dass eine oder mehrere Aminosäuresubstitutionen, -additionen oder -deletionen in das kodierte Protein eingebracht werden. Mutationen können in eine der Sequenzen der SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 durch Standardtechniken, wie stellenspezifische Mutagenese und PCR-vermittelte Mutagenese, eingebracht werden. Vorzugsweise werden konservative Aminosäuresubstitutionen an einer oder mehreren der vorhergesagten nicht-essentiellen Aminosäureresten hergestellt. Bei einer "konservativen Aminosäuresubstitution" wird der Aminosäurerest gegen einen Aminosäurerest mit einer ähnlichen Seitenkette ausgetauscht. Im Fachgebiet sind Familien von Aminosäureresten mit ähnlichen Seitenketten definiert worden. Diese Familien umfassen Aminosäuren mit basischen Seitenketten (z.B. Lysin, Arginin, Histidin), sauren Seitenketten (z.B. Asparaginsäure, Glutaminsäure), ungeladenen polaren Seitenketten (z.B. Glycin, Asparagin, Glutamin, Serin, Threonin, Tyrosin, Cystein), unpolaren Seitenketten, (z.B. Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenylalanin, Methionin, Tryptophan), beta-verzweigten Seitenketten (z.B. Threonin, Valin, Isoleucin) und aromatischen Seitenketten (z.B. Tyrosin, Phenylalanin, Tryp-

tophan, Histidin). Ein vorhergesagter nicht-essentieller Aminosäurerest in einer  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase oder  $\Delta$ -6-Elongase wird somit vorzugsweise durch einen anderen Aminosäurerest aus der gleichen Seitenkettenfamilie ausgetauscht. Alternativ können bei

5 einer anderen Ausführungsform die Mutationen zufallsgemäß über die gesamte oder einen Teil der  $\Delta$ -12-Desaturase,  $\omega$ -3-Desaturase,  $\Delta$ -6-Desaturase,  $\Delta$ -5-Desaturase,  $\Delta$ -4-Desaturase,  $\Delta$ -5-Elongase oder  $\Delta$ -6-Elongase kodierenden Sequenz eingebracht werden, z.B. durch Sättigungsmutagenese, und die resultierenden Mutanten können

10 nach der hier beschriebenen  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -6-Elongase-Aktivität durchmustert werden, um Mutanten zu identifizieren, die die  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\omega$ -3-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -6-Elongase-Aktivität beibehalten haben. Nach der Mutagenese einer der Sequenzen

15 SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO:

20 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 kann das kodierte Protein rekombinant exprimiert werden, und die Aktivität des Proteins kann z.B. unter Verwendung der hier beschriebenen Tests bestimmt werden.

Weitere Erfindungsgegenstände sind transgene nicht-humane Organismen, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47,

25 SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO:

30 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133 oder SEQ ID NO: 183 enthalten oder ein Genkonstrukt oder einen Vektor, die diese erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen enthalten. Vorteilhaft handelt es sich bei dem nicht-humanen Organismus um einen Mikroorganismus, ein nicht-humanes Tier oder eine Pflanze, besonders bevorzugt um eine Pflanze.

35 Diese Erfindung wird durch die nachstehenden Beispiele weiter veranschaulicht, die nicht als beschränkend aufgefasst werden sollten. Der Inhalt sämtlicher in dieser Patentanmeldung zitierten Literaturstellen, Patentanmeldungen, Patente und veröffentlichten Patentanmeldungen ist hier durch Bezugnahme aufgenommen.

## Beispiele

## Beispiel 1: Allgemeine Klonierungsverfahren:

- Die Klonierungsverfahren wie z.B. Restriktionsspaltungen, Agarose-Gelelektrophorese, Reinigung von DNA-Fragmenten, Transfer von Nukleinsäuren auf Nitrozellulose und Nylon Membranen, Verknüpfen von DNA-Fragmenten, Transformation von Escherichia coli Zellen, Anzucht von Bakterien und die Sequenzanalyse rekombinanter DNA wurden wie bei Sambrook et al. (1989) (Cold Spring Harbor Laboratory Press: ISBN 0-87969-309-6) beschrieben durchgeführt.

## Beispiel 2: Sequenzanalyse rekombinanter DNA:

- Die Sequenzierung rekombinanter DNA-Moleküle erfolgte mit einem Laserfluoreszenz-DNA-Sequenzierer der Firma ABI nach der Methode von Sanger (Sanger et al. (1977). Proc. Natl. Acad. Sci. USA74, 5463-5467). Fragmente resultierend aus einer Polymerase Kettenreaktion wurden zur Vermeidung von Polymerasefehlern in zu exprimierenden Konstrukten sequenziert und überprüft.

## Beispiel 3: Klonierung von Genen aus Oncorhynchus mykiss

Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen entsprechend der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene wurden zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in der Sequenzdatenbank von Genbank identifiziert.

Gen-Name	Genbank No	Aminosäuren
OmELO2	CA385234, CA364848, CA366480	264
OmELO3	CA360014, CA350786	295

- Gesamt-RNA von Oncorhynchus mykiss wurde mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Qiagen (Valencia, CA, US) isoliert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe von oligo-dT-Cellulose poly-A+ RNA (mRNA) isoliert (Sambrook et al., 1989). Die RNA wurde mit dem Reverse Transcription System Kit von Promega revers transkribiert und die synthetisierte cDNA in den lambda ZAP Vektor (lambda ZAP Gold, Stratagene) kloniert. Entsprechend Herstellerangaben wurde die cDNA zur Plasmid-DNA entpackt.
- Die cDNA-Plasmid-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden verwendet.

Beispiel 4: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen

Für die Klonierung der zwei Sequenzen zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Primer	Nukleotidsequenz
5' f* OmELO2	5' aagcttacataatggcttcaacatggcaa (SEQ ID NO: 179)
3' r* OmELO2	5' ggatccttatgtcttctgtcttctctgtt (SEQ ID NO: 180)
5' f OmELO3	5' aagcttacataatggagactttta (SEQ ID NO: 181)
3' r OmELO3	5' ggatccttcagtcctccctcactttcc (SEQ ID NO: 182)

\* f: forward, r: reverse

5 Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>

5,00 µL 2mM dNTP

1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

10 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

15 Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

Das PCR Produkt wurde für 2 h bei 37 °C mit den Restriktionsenzymen HindIII und BamHI inkubiert. Der Hefe-Expressionsvektor pYES3 (Invitrogen) wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurde das 812 bp bzw. 905 bp große PCR Produkt sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und

20 Elongase cDNA ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pYES3-OmELO2 und pYES3-OmELO3 wurden durch Sequenzierung verifiziert und in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch

25 Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde pYES3 parallel transformiert. Anschliessend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Tryptophan mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die auf ohne Tryptophan im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES3, pYES3-OmELO2

30 (SEQ ID NO: 51) und pYES3-OmELO3 (SEQ ID NO: 53). Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Beispiel 5: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende des kodierenden Sequenz eingefügt:

PSUN-OmELO2

Forward: 5'-GCGGCCGCGCATAATGGCTTCAACATGGCAA (SEQ ID NO: 175)

Reverse: 3'-GCGGCCGCTTATGTCTTCTTGCTCTTCCTGTT (SEQ ID NO: 176)

PSUN-OMELO3

- Forward: 5'-GCGGCCGCataatggagactttta (SEQ ID NO: 177)

Reverse: 3'-GCGGCCGCTcagtcctccctcactttcc (SEQ ID NO: 178)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA  
 15 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>  
 5,00 µL 2mM dNTP  
 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)  
 0,50 µL Advantage-Polymerase  
 Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

- 20 Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C  
 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C  
 Elongationstemperatur: 2 min 72°C  
 Anzahl der Zyklen: 35

- 25 Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel purification Kit  
 30 gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-OmELO2 und pSUN-OmELO3 wurde durch Sequenzierung verifiziert.

- pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and



- transcript map of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das
- 5 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standard-primer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz: 5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC GGATCTGCTGGCTATGAA-3', SEQ ID NO: 174). Das PCR-Fragment wurde mit
- 10 EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

#### Beispiel 6: Lipidextraktion aus Hefen und Samen:

- Die Auswirkung der genetischen Modifikation in Pflanzen, Pilzen, Algen, Ciliaten oder
- 15 auf die Produktion einer gewünschten Verbindung (wie einer Fettsäure) kann bestimmt werden, indem die modifizierten Mikroorganismen oder die modifizierte Pflanze unter geeigneten Bedingungen (wie den vorstehend beschriebenen) gezüchtet werden und das Medium und/oder die zellulären Komponenten auf die erhöhte Produktion des gewünschten Produktes (d.h. von Lipiden oder einer Fettsäure) untersucht wird. Diese
- 20 Analysetechniken sind dem Fachmann bekannt und umfassen Spektroskopie, Dünnschichtchromatographie, Färbeverfahren verschiedener Art, enzymatische und mikrobiologische Verfahren sowie analytische Chromatographie, wie Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (siehe beispielsweise Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A2, S. 89-90 und S. 443-613, VCH: Weinheim (1985); Fallon, A., et al.,
- 25 (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17; Rehm et al. (1993) Biotechnology, Bd. 3, Kapitel III: "Product recovery and purification", S. 469-714, VCH: Weinheim; Belter, P.A., et al. (1988) Bioseparations: downstream processing for Biotechnology, John Wiley and Sons; Kennedy, J.F., und Cabral, J.M.S. (1992) Recovery processes for biological
- 30 Materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J.A., und Henry, J.D. (1988) Biochemical Separations, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. B3; Kapitel 11, S. 1-27, VCH: Weinheim; und Dechow, F.J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

- Neben den oben erwähnten Verfahren werden Pflanzenlipide aus Pflanzenmaterial wie
- 35 von Cahoon et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 (22):12935-12940, und Browse et al. (1986) Analytic Biochemistry 152:141-145, beschrieben extrahiert. Die qualitative und quantitative Lipid- oder Fettsäureanalyse ist beschrieben bei Christie, William W., Advances in Lipid Methodology, Ayr/Scotland: Oily Press (Oily Press Lipid Library; 2); Christie, William W., Gas Chromatography and Lipids. A Practical Guide - Ayr, Scotland: Oily Press, 1989, Repr. 1992, IX, 307 S. (Oily Press Lipid Library; 1);
- 40 "Progress in Lipid Research, Oxford: Pergamon Press, 1 (1952) - 16 (1977) u.d.T.: Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids CODEN.

Zusätzlich zur Messung des Endproduktes der Fermentation ist es auch möglich, andere Komponenten der Stoffwechselwege zu analysieren, die zur Produktion der gewünschten Verbindung verwendet werden, wie Zwischen- und Nebenprodukte, um die Gesamteffizienz der Produktion der Verbindung zu bestimmen. Die Analyseverfahren umfassen Messungen der Nährstoffmengen im Medium (z.B. Zucker, Kohlenwasserstoffe, Stickstoffquellen, Phosphat und andere Ionen), Messungen der Biomassezusammensetzung und des Wachstums, Analyse der Produktion üblicher Metabolite von Biosynthesewegen und Messungen von Gasen, die während der Fermentation erzeugt werden. Standardverfahren für diese Messungen sind in Applied Microbial Physiology; A Practical Approach, P.M. Rhodes und P.F. Stanbury, Hrsgb., IRL Press, S. 103-129; 131-163 und 165-192 (ISBN: 0199635773) und darin angegebenen Literaturstellen beschrieben.

Ein Beispiel ist die Analyse von Fettsäuren (Abkürzungen: FAME, Fettsäuremethylester; GC-MS, Gas-Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie; TAG, Triacylglycerin; TLC, Dünnschichtchromatographie).

Der unzweideutige Nachweis für das Vorliegen von Fettsäureprodukten kann mittels Analyse rekombinanter Organismen nach Standard-Analyseverfahren erhalten werden: GC, GC-MS oder TLC, wie verschiedentlich beschrieben von Christie und den Literaturstellen darin (1997, in: Advances on Lipid Methodology, Vierte Aufl.: Christie, Oily Press, Dundee, 119-169; 1998, Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Verfahren, Lipide 33:343-353).

Das zu analysierende Material kann durch Ultraschallbehandlung, Mahlen in der Glasmühle, flüssigen Stickstoff und Mahlen oder über andere anwendbare Verfahren aufgebrochen werden. Das Material muss nach dem Aufbrechen zentrifugiert werden. Das Sediment wird in Aqua dest. resuspendiert, 10 min bei 100°C erhitzt, auf Eis abgekühlt und erneut zentrifugiert, gefolgt von Extraktion in 0,5 M Schwefelsäure in Methanol mit 2 % Dimethoxypropan für 1 Std. bei 90°C, was zu hydrolysierten Öl- und Lipidverbindungen führt, die transmethylierte Lipide ergeben. Diese Fettsäuremethylester werden in Petrolether extrahiert und schließlich einer GC-Analyse unter Verwendung einer Kapillarsäule (Chrompack, WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 Mikrom, 0,32 mm) bei einem Temperaturgradienten zwischen 170°C und 240°C für 20 min und 5 min bei 240°C unterworfen. Die Identität der erhaltenen Fettsäuremethylester muss unter Verwendung von Standards, die aus kommerziellen Quellen erhältlich sind (d.h. Sigma), definiert werden.

Pflanzenmaterial wird zunächst mechanisch durch Mörsern homogenisiert, um es einer Extraktion zugänglicher zu machen.

Dann wird 10 min auf 100°C erhitzt und nach dem Abkühlen auf Eis erneut sedimentiert. Das Zellsediment wird mit 1 M methanolischer Schwefelsäure und 2 % Dimethoxypropan 1h bei 90°C hydrolysiert und die Lipide transmethyliert. Die resultierenden Fettsäuremethylester (FAME) werden in Petrolether extrahiert. Die extrahierten FAME werden durch Gasflüssigkeitschromatographie mit einer Kapillarsäule (Chrompack,

- WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 m, 0,32 mm) und einem Temperaturgradienten von 170°C auf 240°C in 20 min und 5 min bei 240°C analysiert. Die Identität der Fettsäuremethylester wird durch Vergleich mit entsprechenden FAME-Standards (Sigma) bestätigt. Die Identität und die Position der Doppelbindung kann durch
- 5 geeignete chemische Derivatisierung der FAME-Gemische z.B. zu 4,4-Dimethoxyoxazolin-Derivaten (Christie, 1998) mittels GC-MS weiter analysiert werden.

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES3, pYES3-OmELO2 und pYES3-OmELO3 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

- Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 10 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit
- 10 Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-
- 15 Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma).

- 25 Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, Lipids. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, Journal of Experimental Botany. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, Arch. Biochem. Biophys. 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, FEBS Letters. 439(3):215-218.

Beispiel 7: Funktionelle Charakterisierung von OmELO2 und OmELO3:

- 30 OmELO2 zeigt keine Elongase-Aktivität, während für OmELO3 eine deutliche Aktivität mit verschiedenen Substraten nachgewiesen werden konnte. Die Substratspezifität der OmELO3 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 2). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Alle transgene Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den
- 35 Produkten der OmELO3-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OmELO3 funktional exprimiert werden konnte.

Figur 2 zeigt, dass die OmELO3 eine Substratspezifität aufweist, die mit hoher Spezifität zur Verlängerung von Δ5- und Δ6-Fettsäuren mit einer ω3-Doppelbindung führt. Es konnte in geringerer Spezifität des weiteren auch ω6-Fettsäuren (C18 und C20)

elongiert werden. Stearidonsäure (C18:4  $\omega$ 3) und Eicosapentaensäure (C20:5  $\omega$ 3) stellen die besten Substrate für die OmElo3 dar (bis zu 66 % Elongation).

#### Beispiel 8: Rekonstitution der Synthese von DHA in Hefe

Die Rekonstitution der Biosynthese von DHA (22:6  $\omega$ 3) wurde ausgehend von EPA (20:5  $\omega$ 3) bzw. Stearidonsäure (18:4  $\omega$ 3) durch die Coexpression der OmElo3 mit der  $\Delta$ -4-Desaturase aus *Euglena gracilis* bzw. der  $\Delta$ -5-Desaturase aus *Phaeodactylum tricornutum* und der  $\Delta$ -4-Desaturase aus *Euglena gracilis* durchgeführt. Dazu wurden weiterhin die Expressionsvektoren pYes2-EgD4 und pESCLEu-PtD5 konstruiert. Der o.g. Hefestamm, der bereits mit dem pYes3-OmElo3 (SEQ ID NO: 55) transformiert ist, wurde weiter mit dem pYes2-EgD4 bzw. gleichzeitig mit pYes2-EgD4 und pESCLEu-PtD5 transformiert. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplet-Minimalmedium-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Tryptophan und Uracil im Falle des pYes3-OmELO/pYes2-EgD4-Stammes und ohne Tryptophan, Uracil und Leucin im Falle des pYes3-OmELO/pYes2-EgD4+pESCLEu-PtD5-Stammes. Die Expression wurde wie oben angegeben durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 120 h bei 15°C inkubiert.

Figur 3 zeigt die Fettsäureprofile von transgenen Hefen, die mit 20:5  $\omega$ 3 gefüttert wurden. In der Kontroll-Hefe (A), die mit dem pYes3-OmElo3-Vektor und dem leeren Vektor pYes2 transformiert wurden, wurde 20:5  $\omega$ 3 sehr effizient zu 22:5  $\omega$ 3 elongiert (65% Elongation). Die zusätzliche Einführung der Eg $\Delta$ -4-Desaturase führte zu der Umsetzung von 22:5  $\omega$ 3 zu 22:6  $\omega$ 3 (DHA). Die Fettsäure-Zusammensetzung der transgenen Hefen ist in Figure 5 wiedergegeben. Nach der Co-Expression von OmElo3 und EgD4 konnte bis zu 3% DHA in Hefen nachgewiesen werden.

In einem weiteren Co-Expressionsexperiment wurden OmElo3, EgD4 und eine  $\Delta$ 5-Desaturase aus *P. tricornutum* (PtD5) zusammen exprimiert. Die transgenen Hefen wurden mit Stearidonsäure (18:4  $\omega$ 3) gefüttert und analysiert (Figur 4). Die Fettsäure-Zusammensetzung dieser Hefen ist in Figur 5 aufgeführt. Durch OmElo3 wurde die gefütterte Fettsäure 18:4  $\omega$ 3 zu 20:4  $\omega$ 3 elongiert (60% Elongation). Letztere wurde durch die PtD5 zu 20:5  $\omega$ 3 desaturiert. Die Aktivität der PtD5 betrug 15%. 20:5  $\omega$ 3 konnte weiterhin durch die OmElo3 zu 22:5  $\omega$ 3 elongiert werden. Im Anschluß wurde die neu synthetisierte 22:5  $\omega$ 3 zu 22:6  $\omega$ 3 (DHA) desaturiert. In diesen Experimenten konnte bis zu 0,7% DHA erzielt werden.

Aus diesen Experimenten geht hervor, dass die in dieser Erfindung verwendeten Sequenzen OmElo3, EgD4 und PtD5 für die Produktion von DHA in eukaryotischen Zellen geeignet sind.

## Beispiel 9: Erzeugung von transgenen Pflanzen

## a) Erzeugung transgener Rapspflanzen (verändert nach Moloney et al., 1992, Plant Cell Reports, 8:238-242)

Zur Erzeugung transgener Rapspflanzen können binäre Vektoren in *Agrobacterium tumefaciens* C58C1:pGV2260 oder *Escherichia coli* genutzt (Deblaere et al, 1984, Nucl. Acids. Res. 13, 4777-4788). Zur Transformation von Rapspflanzen (Var. Drakkar, NPZ Nordeutsche Pflanzenzucht, Höhenlieth, Deutschland), wird eine 1:50 Verdünnung einer Übernachtskultur einer positiv transformierten Agrobakterienkolonie in Murashige-Skoog Medium (Murashige und Skoog 1962 Physiol. Plant. 15, 473) mit 3 % Saccharose (3MS-Medium) benutzt. Petiolen oder Hypokotyledonen frisch gekeimter steriler Rapspflanzen (zu je ca. 1 cm<sup>2</sup>) werden in einer Petrischale mit einer 1:50 Agrobakterienverdünnung für 5-10 Minuten inkubiert. Es folgt eine 3-tägige CoInkubation in Dunkelheit bei 25°C auf 3MS-Medium mit 0,8 % Bacto-Agar. Die Kultivierung wird nach 3 Tagen mit 16 Stunden Licht / 8 Stunden Dunkelheit weitergeführt und in wöchentlichem Rhythmus auf MS-Medium mit 500 mg/l Claforan (Cefotaxime-Natrium), 50 mg/l Kanamycin, 20 µM Benzylaminopurin (BAP) und 1,6 g/l Glukose weitergeführt. Wachsende Sprosse werden auf MS-Medium mit 2 % Saccharose, 250 mg/l Claforan und 0,8 % Bacto-Agar überführt. Bilden sich nach drei Wochen keine Wurzeln, so wurde als Wachstumshormon 2-Indolbuttersäure zum Bewurzeln zum Medium gegeben.

Regenerierte Sprosse werden auf 2MS-Medium mit Kanamycin und Claforan erhalten, nach Bewurzelung in Erde überführt und nach Kultivierung für zwei Wochen in einer Klimakammer oder im Gewächshaus angezogen, zur Blüte gebracht, reife Samen geerntet und auf Elongase-Expression wie  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität oder  $\omega$ -3-Desaturaseaktivität mittels Lipidanalysen untersucht. Linien mit erhöhten Gehalten an C20- und C22 mehrfachungesättigten Fettsäuren können so identifiziert werden.

## b) Herstellung von transgenen Leinpflanzen

Die Herstellung von transgenen Leinpflanzen können zum Beispiel nach der Methode von Bell et al., 1999, In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 35(6):456-465 mittels particle bombardment erzeugt werden. In der Regel wurde eine Agrobakterien-vermittelte Transformation zum Beispiel nach Mlynarova et al. (1994), Plant Cell Report 13: 282-285 zur Leintransformation verwendet.

Beispiel 10: Klonierung von  $\Delta$ 5-Elongase-Genen aus *Thraustochytrium aureum* ATCC34304 und *Thraustochytrium* ssp.

Durch Vergleiche der verschiedenen in dieser Anmeldung gefundenen Elongase-Proteinsequenzen konnten konservierte Nukleinsäurebereiche definiert werden (Histidin-Box: His-Val-X-His-His, Tyrosin-Box: Met-Tyr-X-Tyr-Tyr). Mit Hilfe dieser Sequenzen wurde eine EST-Datenbank von *T. aureum* ATCC34304 und *Thrausto-*

chytrium ssp. nach weiteren  $\Delta$ -5-Elongasen durchsucht. Folgende neue Sequenzen konnten gefunden werden:

Gen-Name	Nukleotide	Aminosäuren
BioTaurELO1	828 bp	275
TL16y2	831	276

- 5 Gesamt-RNA von *T. aureum* ATCC34304 und *Thraustochytrium* ssp. wurde mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Qiagen (Valencia, CA, US) isoliert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe des PolyAtract Isolierungssystems (Promega) mRNA isoliert. Die mRNA wurde mit dem Marathon cDNA Amplification-Kit (BD Biosciences) reverse transkribiert und entsprechend der Herstellerangaben Adaptoren ligiert. Die cDNA-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden mittels 5'- und 3'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) verwendet.

- 10 Beispiel 11: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen

Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Primer	Nukleotidsequenz
5' f* BioTaurELO1	5' gacataatgacgagcaacatgag (SEQ ID NO: 170)
3' r* BioTaurELO1	5' cggcttaggccgactggccttggg (SEQ ID NO: 171)
5'f*TL16y2	5' agacataatggacgtcgtagcagcaatg (SEQ ID NO: 172)
3'r*TL16y2	5' ttagatggctctctgcttcttggcgcc (SEQ ID NO: 173)

\* f: forward, r: reverse

15

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50  $\mu$ L):

5,00  $\mu$ L Template cDNA

5,00  $\mu$ L 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>

5,00  $\mu$ L 2mM dNTP

20 1,25  $\mu$ L je Primer (10 pmol/ $\mu$ L)

0,50  $\mu$ L pfu-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurde eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C

25 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C

Elongationstemperatur: 2 min 72°C

Anzahl der Zyklen: 35

- Die PCR Produkte BioTaurELO1 (siehe SEQ ID NO: 65) und TL16y2 (siehe SEQ ID NO: 83) wurde für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor pYES2.1-TOPO (Invitrogen) inkubiert gemäss Herstellerangaben. Das PCR-Produkt wird dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer Topoisomerase (Invitrogen) in den Vektor ligiert.
- 5 Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von E. coli DH5α Zellen. Entsprechende Klone wurden durch PCR identifiziert, die Plasmid-DNA mittels Qiagen DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequenzierung verifiziert. Die korrekte Sequenz wurde dann in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel transformiert.
- 10 Anschließend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Uracil mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne Uracil im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1, pYES2.1-BioTaurELO1 und pYES2.1-TL16y2. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

15

Beispiel 12: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende des kodierenden Sequenz eingefügt:
- 20

PSUN-BioTaurELO1

Forward: 5'-GCGGCCGCGCATAATGACGAGCAACATGAGC (SEQ ID NO: 166)

- 25 Reverse: 3'-GCGGCCGCTTAGGCCGACTTGGCCTTGGG (SEQ ID NO: 167)

PSUN-TL16y2

Forward: 5'-GCGGCCGCGACCATGGACGTCGTCGAGCAGCAATG (SEQ ID NO: 168)

- 30 Reverse: 5'-GCGGCCGCTTAGATGGTCTTCTGCTTCTTGGGCGCC (SEQ ID NO: 169)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

5,00 µL Template cDNA

5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>

5,00 µL 2mM dNTP

- 35 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)

0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
- Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
- 5 Elongationstemperatur: 2 min 72°C
- Anzahl der Zyklen: 35

- Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert.
- 10 Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide
- 15 pSUN-BioTaurELO1 und pSUN-TL16y2 wurden durch Sequenzierung verifiziert.

- pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das
- 20 Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem *A. tumefaciens* Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor ent-
- 25 spricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standard-primer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz:
- 30 5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC GGATCTGCTGGCTATGAA-3', SEQ ID NO: 165). Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

- 35 Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

Beispiel 13: Funktionelle Charakterisierung von BioTaurELO1 und TL16y2:

- Die Substratspezifität der BioTaurELO1 konnte nach Expression und Fütterung
- 40 verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 6). Figur 6 zeigt die Fütterungs-experimente zur Bestimmung der Funktionalität und Substratspezifität mit Hefe-



stämmen, die entweder den Vektor pYes2.1 (Kontrolle = Control) oder den Vektor pYes2.1-BioTaurELO1 (= BioTaur) mit der  $\Delta$ -5-Elongase enthalten. In beiden Ansätzen wurde 200  $\mu$ M  $\gamma$ -Linolensäure und Eicosapentaensäure dem Hefeinkubationsmedium zugesetzt und 24 h inkubiert. Nach Extraktion der Fettsäuren aus den Hefen wurden  
5 diese transmethyliert und gaschromatographisch aufgetrennt. Die aus den beiden gefütterten Fettsäuren entstandenen Elongationsprodukte sind durch Pfeile markiert.

Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Alle transgene Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der BioTaurELO1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen BioTaurELO1 funktional  
10 exprimiert werden konnte.

Figur 6 zeigt, dass die BioTaurELO1 eine Substratspezifität aufweist, die mit hoher Spezifität zur Verlängerung von  $\Delta$ 5- und  $\Delta$ 6-Fettsäuren mit einer  $\omega$ 3-Doppelbindung führt. Des weiteren konnten auch  $\omega$ 6-Fettsäuren (C18 und C20) elongiert werden. Es werden  $\gamma$ -Linolensäure (C18:3  $\omega$ 6) mit 65,28 %, Stearidonsäure (C18:4  $\omega$ 3) mit  
15 65,66 % und Eicosapentaensäure (C20:5  $\omega$ 3) mit 22,01 % Konversion umgesetzt. Die Substratspezifitäten der verschiedenen Fütterungsexperimente sind in Tabelle 3 dargestellt (siehe am Ende der Beschreibung).

Die Konversionsrate von GLA bei Fütterung von GLA und EPA betrug 65,28 %. Die Konversionsrate von EPA bei gleicher Fütterung von GLA und EPA betrug 9,99 %.  
20 Wurde nur EPA gefüttert, so betrug die Konversionsrate von EPA 22,01 %. Auch Arachidonsäure (= ARA) wurde bei Fütterung umgesetzt. Die Konversionsrate betrug 14,47 %. Auch Stearidonsäure (= SDA) wurde umgesetzt. In diesem Fall betrug die Konversionsrate 65,66 %.

Die Funktionalität und Substratspezifität von TL16y2 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden. Tabelle 4 zeigt die Fütterungsexperimente. Die Fütterungsversuche wurden in gleicherweise durchgeführt wie für BioTaurELO1 beschrieben. Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TL16y2-Reaktion (Fig. 11). Dies bedeutet, dass das  
25 Gen TL16y2 funktional exprimiert werden konnte.  
30

Tabelle 4: Expression von TL16y2 in Hefe.

Flächen der gaschromatographischen Analyse in %									
Plasmid	Fettsäure	C18:3 (n-6)	C18:4 (n-3)	C20:3 (n-6)	C20:4 (n-6)	C20:4 (n-3)	C20:5 (n-3)	C22:4 (n-6)	C22:5 (n-3)
pYES	250 $\mu$ M EPA						13,79		
TL16y2	250 $\mu$ M EPA						25,81		2,25
pYES	50 $\mu$ M EPA						5,07		
TL16y2	50 $\mu$ M EPA						2,48		1,73
pYES	250 $\mu$ M GLA	8,31							
TL16y2	250 $\mu$ M GLA	3,59		10,71					
pYES	250 $\mu$ M ARA				16,03				
TL16y2	250 $\mu$ M ARA				15,2		3,87		
pYES	250 $\mu$ M SDA		26,79			0,35			
TL16y2	250 $\mu$ M SDA		7,74			29,17			

- Die in Tabelle 4 wiedergegebenen Ergebnisse zeigen mit TL16y2 gegenüber der Kontrolle folgende prozentuale Umsätze: a) % Umsatz EPA (250  $\mu$ M): 8 %, b) % Umsatz EPA (50  $\mu$ M): 41 %, c) % Umsatz ARA: 20,3 %, d) % Umsatz SDA: 79,4 % und e) % Umsatz GLA: 74,9 %.

- TL16y2 zeigt damit  $\Delta$ 5-,  $\Delta$ 6- und  $\Delta$ 8-Elongaseaktivität. Dabei ist die Aktivität für C18-Fettsäuren mit  $\Delta$ 6-Doppelbindung am höchsten. Abhängig von der Konzentration an gefütterten Fettsäuren werden dann C20-Fettsäuren mit einer  $\Delta$ 5- bzw.  $\Delta$ 8-Doppelbindung verlängert.

Beispiel 14: Klonierung von Genen aus *Ostreococcus tauri*

- Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit  $\Delta$ 5-Elongaseaktivität oder  $\Delta$ 6-Elongaseaktivität konnten zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Ostreococcus tauri* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden.

Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
OtELO1, ( $\Delta$ -5-Elongase)	SEQ ID NO: 67	300
OtELO2, ( $\Delta$ -6-Elongase)	SEQ ID NO: 69	292

- OtElo1 weist die höchste Ähnlichkeit zu einer Elongase aus *Danio rerio* auf (GenBank AAN77156; ca. 26 % Identität), während OtElo2 die größte Ähnlichkeit zur Physcomitrella Elö (PSE) [ca. 36 % Identität] aufweist (Alignments wurden mit dem tBLASTn-Aalgorithmus (Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990, 215: 403 – 410) durchgeführt.

Die Klonierung wurde wie folgt durchgeführt:

- 40 ml einer *Ostreococcus tauri* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100  $\mu$ l Aqua bidest resuspendiert und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der OtElo-DNAs wurde jeweils mit 1  $\mu$ l aufgetauten Zellen, 200  $\mu$ M dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50  $\mu$ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt:
- Erste Denaturierung bei  $95^{\circ}\text{C}$  für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei  $94^{\circ}\text{C}$  für 30 Sekunden,  $55^{\circ}\text{C}$  für 1 Minute und  $72^{\circ}\text{C}$  für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei  $72^{\circ}\text{C}$  für 10 Minuten.

Beispiel 15: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

- Zur Charakterisierung der Funktion der Elongasen aus *Ostreococcus tauri* wurden die offenen Leserahmen der jeweiligen DNAs stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei pOTE1 und pOTE2 erhalten wurden.
- Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pOTE1 bzw. pOTE2 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplet-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.
- Für die Expression der Ot-Elongasen wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei  $30^{\circ}\text{C}$ , 200 rpm inkubiert. 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300  $\mu$ M verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine  $\text{OD}_{600}$  von 0,05 angeimpft.

Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

Beispiel 16: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- 5 Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen wurden von den 5'- und 3-Bereich von OtElo1 und OtElo2 abgeleitet.

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 10 5,00 µL Template cDNA  
5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>  
5,00 µL 2mM dNTP  
1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)  
0,50 µL Advantage-Polymerase

- 15 Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.  
Reaktionsbedingungen der PCR:  
Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C  
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C  
Elongationstemperatur: 2 min 72°C

- 20 Anzahl der Zyklen: 35

- Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurde die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-OtELO1 und pSUN-OtELO2 wurde durch Sequenzierung verifiziert.

- 30 pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Ostreococcus-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfrag-

ment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz:

5'-GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC

5 GGATCTGCTGGCTATGAA-3', SEQ ID NO: 164).

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, *Raps*, *Tabak* und *Leinsamen* verwendet.

10 Beispiel 17: Expression von OtELO1 und OtELO2 in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 15 mit den Plasmiden pYES3, pYES3-OtELO1 und pYES3-OtELO2 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanololyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*, 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*, 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*, 439(3):215-218.

Beispiel 18: Funktionelle Charakterisierung von OtELO1 und OtELO2:

Die Substratspezifität der OtElo1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab.5). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OtElo1 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 4 zeigt, dass die OtElo1 eine enge Substratspezifität aufweist. Die OtElo1 konnte nur die C20-Fettsäuren Eicosapentaensäure (Figur 7) und Arachidonsäure (Figur 8) elongieren, bevorzugte aber die  $\omega$ -3-desaturierte Eicosapentaensäure.

Tabelle 5:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %)
16:0	-
16:1 <sup>Δ9</sup>	-
18:0	-
18:1 <sup>Δ9</sup>	-
18:1 <sup>Δ11</sup>	-
18:2 <sup>Δ9,12</sup>	-
18:3 <sup>Δ6,9,12</sup>	-
18:3 <sup>Δ5,9,12</sup>	-
20:3 <sup>Δ8,11,14</sup>	-
20:4 <sup>Δ5,8,11,14</sup>	10,8 ± 0,6
20:5 <sup>Δ5,8,11,14,17</sup>	46,8 ± 3,6
22:4 <sup>Δ7,10,13,16</sup>	-
22:6 <sup>Δ4,7,10,13,16,19</sup>	-

5

Tabelle 5 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo1 für C20 polyungesättigte Fettsäuren mit einer Doppelbindung in  $\Delta 5$  Position gegenüber verschiedenen Fettsäuren.

10 Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert (n=3) ± Standardabweichung wieder.

Die Substratspezifität der OtElo2 (SEQ ID NO: 81) konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 6). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo2-Reaktion.

- 5 Dies bedeutet, dass das Gen OtElo2 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 6:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %)
16:0	-
16:1 <sup>Δ9</sup>	-
16:3 <sup>Δ7,10,13</sup>	-
18:0	-
18:1 <sup>Δ6</sup>	-
18:1 <sup>Δ9</sup>	-
18:1 <sup>Δ11</sup>	-
18:2 <sup>Δ9,12</sup>	-
18:3 <sup>Δ6,9,12</sup>	15,3±
18:3 <sup>Δ5,9,12</sup>	-
18:4 <sup>Δ6,9,12,15</sup>	21,1±
20:2 <sup>Δ11,14</sup>	-
20:3 <sup>Δ8,11,14</sup>	-
20:4 <sup>Δ5,8,11,14</sup>	-
20:5 <sup>Δ5,8,11,14,17</sup>	-
22:4 <sup>Δ7,10,13,16</sup>	-
22:5 <sup>Δ7,10,13,16,19</sup>	-
22:6 <sup>Δ4,7,10,13,16,19</sup>	-

Tabelle 6 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo2 gegenüber verschiedenen Fettsäuren.

- 10 Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE2 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert (n=3) ± Standardabweichung wieder.

Die enzymatische Aktivität, die in Tabelle 6 wiedergegeben wird, zeigt klar, dass OTELO2 eine  $\Delta$ -6-Elongase ist.

Beispiel 19: Klonierung von Genen aus *Thalassiosira pseudonana*

- 5 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität oder  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität konnten zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Thalassiosira pseudonana* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
TpELO1 ( $\Delta$ 5-Elongase)	43	358
TpELO2 ( $\Delta$ 5-Elongase)	59	358
TpELO3 ( $\Delta$ 6-Elongase)	45	272

- 10 Eine 2 L Kultur von *T. pseudonana* wurde in f/2 Medium (Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In *Culture of Marine Invertebrate Animals* (Eds. Smith, W.L. and Chanley, M.H.), Plenum Press, New York, pp 29–60.) für 14 d (= Tage) bei einer Lichtstärke von 80 E/cm<sup>2</sup> angezogen. Nach Zentrifugation der Zellen wurde RNA mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Quiagen (Valencia, CA, US) nach Herstellerangaben isoliert. Die mRNA wurde mit dem Marathon cDNA
- 15 Amplifikation-Kit (BD Biosciences) reverse transkribiert und entsprechend den Herstellerangaben Adaptoren ligiert. Die cDNA-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden mittels 5'- und 3'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) verwendet.

- 20 Beispiel 20: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in - Hefen

- Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der TpElo-DNAs wurde jeweils mit 1  $\mu$ L cDNA, 200  $\mu$ M dNTPs, 2,5 U *Advantage*-Polymerase und 100 pmol eines jeden
- 25 Primers in einem Gesamtvolumen von 50  $\mu$ L durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.



Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Gen-Name und SEQ ID NO:	Primersequenz
TpELO1 ( $\Delta 5$ -Elongase), SEQ ID NO: 59	F:5'-accatgtgctcaccaccgccgtc (SEQ ID NO: 158)  R:5'- ctacatggcaccagtaac (SEQ ID NO: 159)
TpELO2 ( $\Delta 5$ -Elongase), SEQ ID NO: 85	F:5'-accatgtgctcatcaccgccgtc (SEQ ID NO: 160)  R:5'-ctacatggcaccagtaac (SEQ ID NO: 161)
TpELO3 ( $\Delta 6$ -Elongase), SEQ ID NO:45	F:5'-accatggacgcctacaacgctgc (SEQ ID NO: 162)  R:5'- ctaagcactcttcttctt (SEQ ID NO: 163)

\*F=forward primer, R=reverse primer

- Die PCR Produkte wurde für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor -
- 5 pYES2.1-TOPO (Invitrogen) gemäß Herstellerangaben inkubiert. Das PCR-Produkt wird dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer Topoisomerase (Invitrogen) in den Vektor ligiert. Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von *E. coli* DH5 $\alpha$  Zellen. Entsprechende Klone wurden durch PCR identifiziert, die Plasmid-DNA
- 10 mittels Qiagen DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequenzierung verifiziert. Die korrekte Sequenz wurde dann in den *Saccharomyces* Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel transformiert. Anschließend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Uracil mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne Uracil im Medium wach-
- 15 tumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1, pYES2.1-TpELO1, pYES2.1-TpELO2 und pYES2.1-TpELO3. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Beispiel 21: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- Für die Transformation von Pflanzen wird ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wird mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt:
- 20

PSUN-TPELO1

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGTGCTCACCACCGCCGTC (SEQ ID NO: 152)

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTACATGGCACCAGTAAC (SEQ ID NO: 153)

## PSUN-TPELO2

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGTGCTCATCACCGCCGTC (SEQ ID NO: 154)

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTACATGGCACCAGTAAC (SEQ ID NO: 155)

## PSUN-TPELO3

5 Forward: 5'-GCGGCCGCaccatggagcgcctacaacgctgc (SEQ ID NO: 156)

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTAAGCACTCTTCTTCTTT (SEQ ID NO: 157)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA
- 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>
- 10 5,00 µL 2mM dNTP
- 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
- 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- 15 Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
- Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
- Elongationstemperatur: 2 min 72°C
- Anzahl der Zyklen: 35

- Die PCR Produkte werden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert.
- 20 Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wird in gleicherweise inkubiert.
- Anschliessend werden die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgt mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschließend werden Vektor und PCR-Produkte ligiert.
- 25 Dazu wird das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-TPELO1, pSUN-TPELO2 und pSUN-TPELO3 werden durch Sequenzierung verifiziert.

- pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem
- 30 in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map
- 35 of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment

wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert.

(Primersequenz: 5'-

GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC

5 GGATCTGCTGGCTATGAA-3'; SEQ ID NO: 151).

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

10 Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

Beispiel 22: Expression von TpELO1, TpELO2 und TpELO3 in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2, pYES2-TpELO1, pYES2-TpELO2 und pYES2-TpELO3 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

15 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanololyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei  
20 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-  
25 Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit  
30 entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

35 Beispiel 23: Funktionelle Charakterisierung von TpELO1 und TpELO3:

Die Substratspezifität der TpELO1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 9). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen

in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TpElo1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen TpElo1 funktional exprimiert werden konnte.

- 5 Tabelle 7 zeigt, dass die TpElo1 eine enge Substratspezifität aufweist. Die TpElo1 konnte nur die C20-Fettsäuren Eicosapentaensäure und Arachidonsäure elongieren, bevorzugte aber die  $\omega$ -3-desaturierte Eicosapentaensäure,

- 10 Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-TpELO1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Tabelle 7: Expression von TpELO1 in Hefe. In den Spalten 1 und 3 sind die Kontrollreaktionen für die Spalten 2 (gefüttert 250  $\mu$ M 20:4  $\Delta$ 5,8,11,14) und 4 (gefüttert 250  $\mu$ M 20:5  $\Delta$ 5,8,11,14,17) wiedergegeben.

	Expression	Expression	Expression	Expression
Fettsäuren	1	2	3	4
16:0	18.8	17.8	25.4	25.2
16:1 $\Delta^9$	28.0	29.8	36.6	36.6
18:0	5.2	5.0	6.8	6.9
18:1 $\Delta^9$	25.5	23.6	24.6	23.9
20:4 $\Delta$ 5,8,11,14	22.5	23.4	-	-
22:4 $\Delta$ 7,10,13,16	-	0.4	-	-
20:5 $\Delta$ 5,8,11,14,17	-	-	6.6	6.5
22:5 $\Delta$ 7,10,13,16,19	-	-	-	0.9
% Umsatz	0	1.7	0	12.2

- 15 Die Substratspezifität der TpElo3 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 10). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der TpElo3-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen TpElo3 funktional exprimiert werden konnte.
- 20 Tabelle 8 zeigt, dass die TpElo3 eine enge Substratspezifität aufweist. Die TpElo3 konnte nur die C18-Fettsäuren  $\gamma$ -Linolensäure und Stearidonsäure elongieren, bevorzugte aber die  $\omega$ -3-desaturierte Stearidonsäure.

Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-TpELO3 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

- 5 Tabelle 8: Expression von TpELO3 in Hefe. Spalte 1 zeigt das Fettsäureprofil von Hefe ohne Fütterung. Spalte 2 zeigt die Kontrollreaktion. In den Spalten 3 bis 6 wurden  $\gamma$ -Linolensäure, Stearidonsäure, Arachidonsäure und Eicosapentaensäure gefüttert (250  $\mu$ M jeder Fettsäure).

Fettsäuren	1	2	3	4	5	6
16:0	17.9	20.6	17.8	16.7	18.8	18.8
16:1 <sup><math>\Delta^9</math></sup>	41.7	18.7	27.0	33.2	24.0	31.3
18:0	7.0	7.7	6.4	6.6	5.2	6.0
18:1 <sup><math>\Delta^9</math></sup>	33.3	16.8	24.2	31.8	25.5	26.4
18:2 <sup><math>\Delta^9,12</math></sup>	-	36.1	-	-	-	-
18:3 <sup><math>\Delta^6,9,12</math></sup>	-	-	6.1	-	-	-
18:4 <sup><math>\Delta^6,9,12,15</math></sup>	-	-	-	1.7	-	-
20:2 <sup><math>\Delta^{11,14}</math></sup>	-	0	-	-	-	-
20:3 <sup><math>\Delta^8,11,14</math></sup>	-	-	18.5	-	-	-
20:4 <sup><math>\Delta^8,11,14,17</math></sup>	-	-	-	10.0	-	-
20:4 <sup><math>\Delta^5,8,11,14</math></sup>	-	-	-	-	22.5	-
22:4 <sup><math>\Delta^7,10,13,16</math></sup>	-	-	-	-	0	-
20:5 <sup><math>\Delta^5,8,11,14,17</math></sup>	-	-	-	-	-	17.4
22:5 <sup><math>\Delta^7,10,13,16,19</math></sup>	-	-	-	-	-	0
% Umsatz	0	0	75	85	0	0

- 10 Beispiel 24: Klonierung eines Expressionsplasmides zur heterologen Expression der Pi-omega3Des in Hefen

Der Pi-omega3Des Klon wurde für die heterologe Expression in Hefen über PCR mit entsprechenden Pi-omega3Des spezifischen Primern in den Hefe-Expressionsvektor pYES3 kloniert. Dabei wurde ausschließlich der für das Pi-omega3Des Protein

- 15 kodierende offene Leseraster des Gens amplifiziert und mit zwei Schnittstellen für die Klonierung in den pYES3 Expressionsvektor versehen:

Forward Primer: 5'-TAAGCTTACATGGCGACGAAGGAGG (SEQ ID NO: 149)  
Reverse Primer: 5'-TGGATCCACTTACGTGGACTTGGT (SEQ ID NO: 150)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5 5,00 µL Template cDNA
- 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>
- 5,00 µL 2mM dNTP
- 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL des 5'-ATG sowie des 3'-Stopp Primers)
- 0,50 µL Advantage-Polymerase
- 10 Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C  
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C  
Elongationstemperatur: 2 min 72°C

- 15 Anzahl der Zyklen: 35

- Das PCR Produkt wurde für 2 h bei 37 °C mit den Restriktionsenzymen HindIII und BamHI inkubiert. Der Hefe-Expressionsvektor pYES3 (Invitrogen) wurde in gleicherweise inkubiert. Anschließend wurde das 1104 bp große PCR Produkt sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und Desaturase-cDNA ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Das entstandene Plasmid pYES3-Pi-omega3Des wurde durch Sequenzierung überprüft und in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde pYES3 parallel transformiert. Anschliessend wurden die Hefen auf Komplett-Minimalmedium ohne Tryptophan mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die auf ohne Tryptophan im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES3, pYES3-Pi-omega3Des. Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

- 30 Beispiel 25: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurde mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt:

- 35 PSUN-Pi-omega3Des

Reverse: 3'-GCGGCCGCTTACGTGGACTTGGTC (SEQ ID NO: 147)

Forward: 5'-GCGGCCGCGatGGCGACGAAGGAGG (SEQ ID NO: 148)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA
  - 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>
  - 5 5,00 µL 2mM dNTP
  - 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
  - 0,50 µL Advantage-Polymerase
- Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- 10 Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
- Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
- Elongationstemperatur: 2 min 72°C
- Anzahl der Zyklen: 35

- Die PCR Produkte wurden für 4 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert.
- 15 Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert.
  - Anschließend wurde die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolge mittels Qiagen Gel purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert.
  - 20 Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Das entstandene Plasmid pSUN-Piomega3Des wurde durch Sequenzierung verifiziert.

Beispiel 26: Expression von Pi-omega3Des in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 24 mit dem Plasmid pYES3 oder pYES3- Pi-omega3Des transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

- 25 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei
- 30 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-
- 35 Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-

Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert. Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

10 Beispiel 27: Funktionelle Charakterisierung von Pi-omega3Des:

Die Substratspezifität der Pi-omega3Des konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Figur 12 bis 18). Die gefütterten Substrate liegen in großen Mengen in allen transgenen Hefen vor, wodurch die Aufnahme dieser Fettsäuren in die Hefen bewiesen ist. Die transgenen Hefen zeigen die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der Pi-omega3Des-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen Pi-omega3Des funktional exprimiert werden konnte.

Figur 12 gibt die Desaturierung von Linolsäure (18:2  $\omega$ -6-Fettsäure) zu  $\alpha$ -Linolensäure (18:3  $\omega$ -3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 12 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 12 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C18:2 <sup>$\Delta$ 9,12</sup>-Fettsäure (300  $\mu$ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

In Figur 13 ist die Desaturierung von  $\gamma$ -Linolensäure (18:3  $\omega$ -6-Fettsäure) zu Stearidonsäure (18:4  $\omega$ -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des wiedergegeben. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 13 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 13 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von  $\gamma$ -C18:3 <sup>$\Delta$ 6,9,12</sup>-Fettsäure (300  $\mu$ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 14 gibt die Desaturierung von C20:2- $\omega$ -6-Fettsäure zu C20:3- $\omega$ -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 14 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 14 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C20:2 <sup>$\Delta$ 11,14</sup>-Fettsäure (300  $\mu$ M) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 15 gibt die Desaturierung von C20:3- $\omega$ -6-Fettsäure zu C20:4- $\omega$ -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch



saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 15 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 15 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C20:3<sup>Δ8,11,14</sup>-Fettsäure (300 μM) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

- 5 In Figur 16 wird die Desaturierung von Arachidonsäure (C20:4-ω-6-Fettsäure) zu Eicosapentaensäure (C20:5-ω-3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des gezeigt.

Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen, die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 16 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 16 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimal-  
10 medium in Gegenwart von C20:4<sup>Δ5,8,11,14</sup>-Fettsäure (300 μM) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Figur 17 gibt die Desaturierung von Docosatetraensäure (C22:4-ω-6-Fettsäure) zu Docosapentaensäure (C22:5-ω-3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des wieder. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen,  
15 die mit dem Leervektor pYES2 (Figur 17 A) oder dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des (Figur 17 B) transformiert worden waren. Die Hefen wurden in Minimalmedium in Gegenwart von C22:4<sup>Δ7,10,13,16</sup>-Fettsäure (300 μM) kultiviert. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Die Substratspezifität der Pi-omega3Des gegenüber verschiedenen Fettsäuren ist  
20 Figur 18 zu entnehmen. Die Hefen, die mit dem Vektor pYes3-Pi-omega3Des transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt einen Mittelwert aus drei Messungen wieder. Die Umsetzungsraten (%  
25 Desaturation) wurden mit der Formel:  
[Produkt]/([Produkt]+[Substrat])\*100 errechnet.

Wie unter Beispiel 9 beschrieben kann auch die Pi-omega3Des zur Erzeugung transgener Pflanzen verwendet werden. Aus den Samen dieser Pflanzen kann dann die Lipidextraktion wie unter Beispiel 6 beschrieben erfolgen.

- 30 Beispiel 28: Klonierung von Desaturasegenen aus *Ostreococcus tauri*

Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe von konservierten Motiven (His-Boxen, Domergue et al. 2002, Eur. J. Biochem. 269, 4105-4113) konnten fünf Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Ostreococcus tauri* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich  
35 dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren	Homologie
OtD4	SEQ ID NO: 95	536	$\Delta$ -4-Desaturase
OtD5.1	SEQ ID NO: 91	201	$\Delta$ -5-Desaturase
OtD5.2	SEQ ID NO: 93	237	$\Delta$ -5-Desaturase
OtD6.1	SEQ ID NO: 89	456	$\Delta$ -6-Desaturase
OtFad2	SEQ ID NO: 107	361	$\Delta$ -12-Desaturase

Die Alignments zur Auffindung von Homologien der einzelnen Gene wurden mit dem tBLASTn-Aalgorithmus (Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990, 215: 403 – 410) durchgeführt.

5 Die Klonierung erfolgte wie folgt:

- 40 ml einer *Ostreococcus tauri* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100  $\mu$ l Aqua bidest resuspendiert und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der OtDes-DNAs wurde jeweils mit 1  $\mu$ l aufgetauten Zellen, 200  $\mu$ M dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50  $\mu$ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt:
- 10 Erste Denaturierung bei  $95^{\circ}\text{C}$  für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei  $94^{\circ}\text{C}$  für 30
- 15 Sekunden,  $55^{\circ}\text{C}$  für 1 Minute und  $72^{\circ}\text{C}$  für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei  $72^{\circ}\text{C}$  für 10 Minuten.

Folgende Primer wurden für die PCR eingesetzt:

OtDes6.1 Forward: 5'ggtagcacataatgtgcgtggagacggaaaataacg3' (SEQ ID NO: 145)

OtDes6.1 Reverse: 5'ctcgagttacgccgtcttccggagtgtggcc3' (SEQ ID NO: 146)

- 20 Beispiel: 29 Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

- Zur Charakterisierung der Funktion der Desaturase OtDes6.1 (=  $\Delta$ -6-Desaturase) aus *Ostreococcus tauri* wurde der offene Leserahmen der DNA stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen)
- 25 kloniert, wobei der entsprechenden pYES2.1-OtDes6.1 Klon erhalten wurde. In entsprechender Art und Weise können weitere Desaturase-Gene aus *Ostreococcus* kloniert werden.

- Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pYES2.1-OtDes6.1 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplet-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

- Für die Expression der OtDes6.1 Desaturase wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert.
- 10 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine OD<sub>600</sub> von 0,05 angeimpft. Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

- Beispiel: 30 Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen
- 15

Für die Transformation von Pflanzen wird ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu werden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen werden von den 5'- und 3-Bereich der Desaturasen abgeleitet.

- 20 Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA  
5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>  
5,00 µL 2mM dNTP  
1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
- 25 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C  
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
- 30 Elongationstemperatur: 2 min 72°C  
Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte werden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wird in gleicherweise inkubiert. Anschliessend werden die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-

Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgt mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend werden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide werden durch Sequenzierung verifiziert.

pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Ostreococcus-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz: 5'-

20 GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC  
GGATCTGCTGGCTATGAA-3', SEQ ID NO: 144).

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von Arabidopsis thaliana, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Beispiel: 31 Expression von OtDes6.1 in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2 und pYES2-OtDes6.2 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

30 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit 35 Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-

Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

- 5 Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*.  
10 439(3):215-218.

Beispiel: 32 Funktionelle Charakterisierung von Desaturasen aus *Ostreococcus*:

- Die Substratspezifität von Desaturasen kann nach Expression in Hefe (siehe Beispiele Klonierung von Desaturase-Genen, Hefeexpression) durch die Fütterung mittels verschiedener Hefen ermittelt werden. Beschreibungen für die Bestimmung der  
15 einzelnen Aktivitäten finden sich in WO 93/11245 für  $\Delta 15$ -Desaturasen, WO 94/11516 für  $\Delta 12$ -Desaturasen, WO 93/06712, US 5,614,393, US5614393, WO 96/21022, WO0021557 und WO 99/27111 für  $\Delta 6$ -Desaturasen, Qiu et al. 2001, *J. Biol. Chem.* 276, 31561-31566 für  $\Delta 4$ -Desaturasen, Hong et al. 2002, *Lipids* 37,863-868 für  $\Delta 5$ -Desaturasen.

- 20 Tabelle 9 gibt die Substratspezifität der Desaturase OtDes6.1 gegenüber verschiedenen Fettsäuren wieder. Die Substratspezifität der OtDes6.1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden. Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtDes6.2-Reaktion  
25 (Fig. 20). Dies bedeutet, dass das Gen OtDes6.1 funktional exprimiert werden konnte.

- Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-OtDes6.1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert ( $n=3$ )  $\pm$   
30 Standardabweichung wieder. Die Aktivität entspricht der Konversionsrate errechnet nach  $[\text{Substrat}/(\text{Substrat}+\text{Produkt}) \cdot 100]$ .

Tabelle 9 zeigt, dass die OtDes6.1 eine Substratspezifität für Linol- und Linolensäure (18:2 und 18:3) aufweist, da mit diesen Fettsäuren die höchsten Aktivitäten erreicht werden. Die Aktivität für Ölsäure (18:1) und Palmitoleinsäure (16:1) ist dagegen deutlich geringer. Die bevorzugte Umsetzung von Linol- und Linolensäure zeigt die

- 5 Eignung dieser Desaturase für die Herstellung von polyungesättigten Fettsäuren.

Substrate	Aktivität in %
16:1 <sup>Δ<sup>9</sup></sup>	5,6
18:1 <sup>Δ<sup>9</sup></sup>	13,1
18:2 <sup>Δ<sup>9,12</sup></sup>	68,7
18:3 <sup>Δ<sup>9,12,15</sup></sup>	64,6

Figur 20 zeigt die Umsetzung von Linolsäure durch OtDes6.1. Die Analyse der FAMES erfolgte über Gaschrommatographie. Das gefütterte Substrat (C18:2) wird zu  $\gamma$ -C18:3 umgesetzt. Sowohl Edukt als auch das entstandene Produkt sind durch Pfeile markiert.

- 10 In Figur 21 wird die Umsetzung von Linolsäure (= LA) und  $\alpha$ -Linolensäure (= ALA) in Gegenwart von OtDes6.1 zu  $\gamma$ -Linolensäure (= GLA) bzw. Stearidonsäure (= STA) wiedergegeben (Figur 21 A und C). Weiterhin zeigt Figur 21 die Umsetzung von Linolsäure (= LA) und  $\alpha$ -Linolensäure (= ALA) in Gegenwart der  $\Delta$ -6-Desaturase OtDes6.1 zusammen mit der  $\Delta$ -6-Elongase PSE1 aus *Physcomitrella patens* (Zank et al. 2002, Plant J. 31:255-268) und der  $\Delta$ -5-Desaturase PtD5 aus *Phaeodactylum* 15 *tricornutum* (Domergue et al. 2002, Eur. J. Biochem. 269, 4105-4113) zu Dihomo- $\gamma$ -linolensäure (= DHGLA) und Arachidonsäure (= ARA, Figur 21 B) bzw. zu Dihomostearidonsäure (= DHSTA) bzw. Eicosapentaensäure (= EPA, Figur 21 D). Figur 21 zeigt deutlich, dass die Reaktionsprodukte GLA und STA der  $\Delta$ -6-Desaturase OtDes6.1 in 20 Gegenwart der  $\Delta$ -6-Elongase PSE1 fast quantitativ zu DHGLA bzw. DHSTA elongiert wird. Die nachfolgende Desaturierung durch die  $\Delta$ -5-Desaturase PtD5 erfolgt ebenfalls reibungslos zu ARA bzw. EPA. Es werden ca. 25 – 30% des Elongaseprodukts desaturiert (Figur 21 B und D).

Die folgenden Tabelle 10 gibt eine Übersicht über die klonierten *Ostreococcus* Desaturasen wieder:

<u><b>Ostreococcus tauri Desaturasen</b></u>							
Name	bp	aa	Homologie	Cyt. B5	His-Box1	His-Box2	His-Box3
OtD4	1611	536	$\Delta$ -4- Desaturase	HPGG	HCANH	WRYHHQVSHH	QVEHHLFP
OtD5.1	606	201	$\Delta$ -5- Desaturase	-	-	-	QVVHHLFP
OtD5.2	714	237	$\Delta$ -5- Desaturase	-	-	WRYHHMVSHH	QIEHHLFP
OtD6.1	1443	480	$\Delta$ -6- Desaturase	HPGG	HEGGH	WNSMHNKHH	QVIHHLFP
OtFAD2	1086	361	$\Delta$ -12- Desaturase	-	HECGH	WQRSHAVHH	HVAHH

Beispiel : 33 Klonierung von Desaturasegenen aus *Thalassiosira pseudonana*

- 5 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe von konservierten Motiven (His-Boxen, siehe Motive) konnten sechs Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Thalassiosira pseudonana* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren	Homologie
TpD4	SEQ ID NO: 103	503	$\Delta$ -4-Desaturase
TpD5-1	SEQ ID NO: 99	476	$\Delta$ -5-Desaturase
TpD5-2	SEQ ID NO: 101	482	$\Delta$ -5-Desaturase
TpD6	SEQ ID NO: 97	484	$\Delta$ -6-Desaturase
TpFAD2	SEQ ID NO: 109	434	$\Delta$ -12-Desaturase
TpO3	SEQ ID NO: 105	418	$\omega$ -3-Desaturase

10

Die Klonierung erfolgte wie folgt:

40 ml einer *Thalassiosira pseudonana* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100  $\mu$ l Aqua bidest resuspendiert und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die

entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der TpDes-DNAs wurde jeweils mit 1 µl aufgetauten Zellen, 200 µM dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50 µl durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

5  
10 Beispiel: 34 Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

Zur Charakterisierung der Funktion der Desaturasen aus *Thalassiosira pseudonana* wird der offene Leserahmen der jeweiligen DNA stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei der entsprechenden pYES2.1-Klone erhalten werden.

15 Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wird durch Elektroporation (1500 V) mit den Vektoren pYES2.1-TpDesaturasen transformiert. Als Kontrolle wird eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wird. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgt auf Komplett-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion werden je drei Transformanten zur  
20 weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Für die Expression der Tp-Desaturasen werden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert.  
25 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren werden dann mit den Vorkulturen auf eine OD<sub>600</sub> von 0,05 angeimpft. Die Expression wird durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen werden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

Beispiel: 35 Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

30 Für die Transformation von Pflanzen wird ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu werden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen werden von den 5'- und 3-Bereich der Desaturasen abgeleitet.



Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA
- 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>
- 5,00 µL 2mM dNTP
- 5 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
- 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
- 10 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
- Elongationstemperatur: 2 min 72°C
- Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte werden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wird in gleicherweise inkubiert.

- 15 Anschliessend werden die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgt mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschliessend werden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide
- 20 werden durch Sequenzierung verifiziert.

- pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadeny-
- 25 lierungssignal ist das des OCS-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden
  - 30 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert. (Primersequenz: 5'-
  - 35 GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC  
GGATCTGCTGGCTATGAA-3'; SEQ ID NO: 143)

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

5    Beispiel: 36        Expression von Tp-Desaturasen in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2 und pYES2-TpDesaturasen transformiert werden, werden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen werden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten werden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu werden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren werden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend werden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben werden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse sind wie folgt: Die Ofentemperatur wird von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgt durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel: 37        Funktionelle Charakterisierung von Desaturasen aus *Thalassiosira pseudonana*:

Die Substratspezifität von Desaturasen kann nach Expression in Hefe (siehe Beispiele Klonierung von Desaturase-Genen, Hefeexpression) durch die Fütterung mittels verschiedener Hefen ermittelt werden. Beschreibungen für die Bestimmung der einzelnen Aktivitäten finden sich in WO 93/11245 für  $\Delta 15$ -Desaturasen, WO 94/11516 für  $\Delta 12$ -Desaturasen, WO 93/06712, US 5,614,393, US 5,614,393, WO 96/21022, WO 00/21557 und WO 99/27111 für  $\Delta 6$ -Desaturasen, Qiu et al. 2001, *J. Biol. Chem.* 276, 31561-31566 für  $\Delta 4$ -Desaturasen, Hong et al. 2002, *Lipids* 37, 863-868 für  $\Delta 5$ -Desaturasen.

Die Aktivität der einzelnen Desaturasen wird aus der Konversionsrate errechnet nach der Formel  $[\text{Substrat}/(\text{Substrat}+\text{Produkt}) \cdot 100]$ .

Die folgenden Tabellen 11 und 12 geben eine Übersicht über die clonierten *Thalassiosira pseudonana* Desaturasen wieder.

- 5 Tabelle 11: Länge und charakteristische Merkmale der clonierten *Thalassiosira* Desaturasen.

Desaturase	cDNA (bp)	Protein (aa)	Cyt. B5	His-Box1	His-Box2	His-Box3
TpD4	1512	503	HPGG	HDGNH	WELQHMLGHH	QIEHHLFP
TpD5-1	1431	476	HPGG	HDANH	WMAQHWTHH	QVEHHLFP
TpD5-2	1443	482	HPGG	HDANH	WLAQHWTHH	QVEHHLFP
TpD6	1449	484	HPGG	HDFLH	WKNKHNGHH	QVDHHLFP
TpFAD2 (d12)	1305	434	-	HECGH	HAKHH	HVAHHLFH
TpO3	1257	419	-	HDAGH	WLFMVTYLQH H	HVVHHLF

Tabelle 12: Länge, Exons, Homologie und Identitäten der clonierten Desaturasen.

Des.	GDN A (bp)	Exon 1	Exon 2	First Blast Hit	Hom./Iden.
TpD4	2633	496-1314	1571-2260	Thrautochitrium D4- des	56% / 43%
TpD5-1	2630	490-800	900-2019	Phaeodactylum D5- des	74% / 62%
TpD5-2	2643	532-765	854-2068	Phaeodactylum D5- des	72% / 61%
TpD6	2371	379-480	630-1982	Phaeodactylum D6- des	83% / 69%
TpFAD2	2667	728-2032	-	Phaeodactylum FAD2	76% / 61%
TpO3	2402	403-988	1073-1743	Chaenorhabdids Fad2	49% / 28%

- 10 Analog zu den vorgenannten Beispielen lassen sich auch die  $\Delta$ -12-Desaturasegene aus *Ostreococcus* und *Thalassiosira* clonieren.

### Beispiel 38 Klonierung von Elongase Genen aus *Xenopus laevis* und *Ciona intestinalis*

- 5 Durch Suche nach konservierten Bereichen (siehe Konsensus-Sequenzen, SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 116) in den Proteinsequenzen in Gendatenbanken (Genbank) mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität oder  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität konnten weitere Elongasesequenzen aus anderen Organismen identifiziert und isoliert werden. Aus *X. laevis* bzw. aus *C. intestinalis* konnten mit entsprechenden Motiven jeweils weitere Sequenzen identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	Organismus	Genbank-Nr.	SEQ ID NO:	Aminosäuren
ELO(XI)	<i>Xenopus laevis</i>	BC044967	117	303
ELO(Ci)	<i>Ciona intestinalis</i>	AK112719	119	290

10

Der cDNA Klon von *X. laevis* wurde vom NIH (National Institut of Health) bezogen [Genetic and genomic tools for *Xenopus* research: The NIH *Xenopus* initiative, Dev. Dyn. 225 (4), 384-391 (2002)].

15

Der cDNA Klon von *C. inetstinalis* wurde von der Universität von Kyto bezogen [Satou,Y., Yamada,L., Mochizuki,Y., Takatori,N., Kawashima,T., Sasaki,A., Hamaguchi,M., Awazu,S., Yagi,K., Sasakura,Y., Nakayama,A., Ishikawa,H., Inaba,K. and Satoh,N. "A cDNA resource from the basal chordate *Ciona intestinalis*" JOURNAL Genesis 33 (4), 153-154 (2002)].

20

### Beispiel 39: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen

25

Die Amplifizierung der Elongase-DNAs wurde jeweils mit 1  $\mu$ L cDNA, 200  $\mu$ M dNTPs, 2,5 U *Advantage*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50  $\mu$ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Gen-Name und SEQ ID NO:	Primersequenz
ELO(XI) SEQ ID NO: 121	F:5'- AGGATCC <u>ATGGC</u> CTTCAAGGAGCTCACATC
SEQ ID NO: 122	R:5'- CCTCGAG <u>TCA</u> ATGGTTTTTGCTTTTCAATG-CACCG
ELO(Ci), SEQ ID NO: 123	F:5'- TAAGCTT <u>ATGG</u> ACGTACTTCATCGT
SEQ ID NO: 124	R:5'- TCAGATCTT <u>TAAT</u> CGGTTTTACCATT

\*F=forward primer, R=reverse primer

- Die PCR Produkte wurde für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor - pYES2.1-TOPO (Invitrogen) gemäß Herstellerangaben inkubiert. Das PCR-Produkt wird dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer Topoisomerase (Invitrogen) nach Herstellerangaben in den Vektor ligiert. Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von E. coli DH5α Zellen. Entsprechende Klone wurden durch PCR - identifiziert, die Plasmid-DNA mittels Qiagen DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequenzierung verifiziert. Die korrekte Sequenz wurde dann in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel transformiert. Anschließend wurden die Hefen auf Komplet-Minimalmedium ohne Uracil mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne Uracil im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1, pYES2.1-ELO(XI) und pYES2.1-ELO(Ci). Nach der Selektion wurden je zwei Transformaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.
- 15 Beispiel 40: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

Für die Transformation von Pflanzen wird ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu werden mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt:.

## 20 pSUN-ELO(XI)

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGGCCTTCAAGGAGCTCACATC (SEQ ID NO: 125)

Reverse: 3'-GCGGCCGCCTTCAATGGTTTTGCTTTTCAATGCACCG (SEQ ID NO: 126)

## 25 pSUN-ELO(Ci)

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGGACGTACTTCATCGT (SEQ ID NO: 127)

Reverse: 3'-GCGGCCGCTTTTAATCGGTTTACCATT

(SEQ ID NO: 128)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA
- 5 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>
- 5,00 µL 2mM dNTP
- 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
- 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

- 10 Reaktionsbedingungen der PCR:

Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C  
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C  
Elongationstemperatur: 2 min 72°C  
Anzahl der Zyklen: 35

- 15 Die PCR Produkte wurden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wurde in gleicherweise inkubiert. Anschliessend wurden die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel Purification Kit
- 20 gemäß Herstellerangaben. Anschließend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-ELO(XI) und pSUN-ELO(Ci) wurden durch Sequenzierung verifiziert.

- pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP [Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994]. pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem
- 25 in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map
- 30 of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982) Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert.
- 35

Primersequenz: 5'-

GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGCGGGGATCC  
GGATCTGCTGGCTATGAA-3' (SEQ ID NO: 129).

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

- 5 Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

Beispiel 41: Expression von ELO(XI) und ELO(Ci) in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2, pYES2-ELO(XI) und pYES2-ELO(Ci) transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

- 10 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethyl-  
ester (FAMES) durch saure Methanololyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei  
15 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest.  
gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-  
20 Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

- Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum  
25 Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8): 761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 42: Funktionelle Charakterisierung von ELO(XI) und ELO(Ci):

- 30 Die Substratspezifität der ELO(XI) konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 22). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der ELO(XI)-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen ELO(XI) funktional exprimiert werden konnte.
- 35 Tabelle 13 zeigt, dass die ELO(XI) eine breite Substratspezifität aufweist. Es werden sowohl C18 als auch C20 Fettsäuren verlängert, wobei ein Bevorzugung von Δ5- und Δ6-desaturierten Fettsäuren zu beobachten ist.

Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-ELO(XI) transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

- 5 Tabelle 13: Expression von ELO(XI) in Hefe. Beschrieben ist die Umsetzungsrate (Konversionsrate) verschiedener Edukte (gefüttert jeweils 250  $\mu$ M).

Edukte	Konversion der Edukte durch ELO(XI) in %
16:0	3
16:1 <sup><math>\Delta</math>9</sup>	0
18:0	2
18:1 <sup><math>\Delta</math>9</sup>	0
18:2 <sup><math>\Delta</math>9,12</sup>	3
18:3 <sup><math>\Delta</math>6,9,12</sup>	12
18:3 <sup><math>\Delta</math>5,9,12</sup>	13
18:3 <sup><math>\Delta</math>9,12,15</sup>	3
18:4 <sup><math>\Delta</math>6,9,12,15</sup>	20
20:3 <sup><math>\Delta</math>8,11,14</sup>	5
20:3 <sup><math>\Delta</math>11,14,17</sup>	13
20:4 <sup><math>\Delta</math>5,8,11,14</sup>	15
20:5 <sup><math>\Delta</math>5,8,11,14,17</sup>	10
22:4 <sup><math>\Delta</math>7,10,13,16</sup>	0
22:6 <sup><math>\Delta</math>4,7,10,13,16,19</sup>	0



Die Substratspezifität der ELO(Ci) konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 23). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der ELO(Ci)-Reaktion. Dies bedeutet, dass

5 das Gen ELO(Ci) funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 14: Expression von ELO(Ci) in Hefe. Beschrieben ist die Umsetzungsrate (Konversionsrate) verschiedener Edukte (gefüttert jeweils 250  $\mu$ M).

Edukte	Konversion der Edukte durch ELO(Ci) in %
16:0	0
16:1 <sup><math>\Delta</math>9</sup>	0
18:0	0
18:1 <sup><math>\Delta</math>9</sup>	0
18:2 <sup><math>\Delta</math>9,12</sup>	23
18:3 <sup><math>\Delta</math>6,9,12</sup>	10
18:3 <sup><math>\Delta</math>5,9,12</sup>	38
18:3 <sup><math>\Delta</math>9,12,15</sup>	25
18:4 <sup><math>\Delta</math>6,9,12,15</sup>	3
20:3 <sup><math>\Delta</math>8,11,14</sup>	10
20:3 <sup><math>\Delta</math>11,14,17</sup>	8
20:4 <sup><math>\Delta</math>5,8,11,14</sup>	10
20:5 <sup><math>\Delta</math>5,8,11,14,17</sup>	15
22:4 <sup><math>\Delta</math>7,10,13,16</sup>	0
22:6 <sup><math>\Delta</math>4,7,10,13,16,19</sup>	0

Tabelle 14 zeigt, dass die ELO(Ci) eine breite Substratspezifität aufweist. Es werden sowohl C18 als auch C20 Fettsäuren verlängert, wobei ein Bevorzugung von  $\Delta 5$ - und  $\Delta 6$ -desaturierten Fettsäuren zu beobachten ist.

- 5 Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-ELO(Ci) transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Beispiel 43: Klonierung von Genen aus *Ostreococcus tauri*

- 10 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der hierin beschriebenen Elongase-Gene mit  $\Delta 5$ -Elongaseaktivität oder  $\Delta 6$ -Elongaseaktivität konnten je zwei Sequenzen mit entsprechenden Motiven in einer *Ostreococcus tauri* Sequenzdatenbank (genomische Sequenzen) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
OtELO1, ( $\Delta 5$ -Elongase)	SEQ ID NO: 67	300
OtELO1.2, ( $\Delta 5$ -Elongase)	SEQ ID NO: 113	300
OtELO2, ( $\Delta 6$ -Elongase)	SEQ ID NO: 69	292
OtELO2.1, ( $\Delta 6$ -Elongase)	SEQ ID NO: 111	292

- 15 OtElo1 und OtElo1.2 weisen die höchste Ähnlichkeit zu einer Elongase aus *Danio rerio* auf (GenBank AAN77156; ca. 26 % Identität), während OtElo2 und OtElo2.1 die größte Ähnlichkeit zur *Physcomitrella* Elo (PSE) [ca. 36 % Identität] aufweisen (Alignments wurden mit dem tBLASTn-Algorithmus (Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990, 215: 403 – 410) durchgeführt.

Die Klonierung der Elongasen wurde wie folgt durchgeführt:

- 20 40 ml einer *Ostreococcus tauri* Kultur in der stationären Phase wurden abzentrifugiert und in 100  $\mu$ l Aqua bidest resuspendiert und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert. Auf der Basis des PCR-Verfahren wurden die zugehörigen genomischen DNAs amplifiziert. Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292) neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der OtElo-DNAs wurde jeweils mit 1  $\mu$ l aufgetauten Zellen,
- 25 200  $\mu\text{M}$  dNTPs, 2,5 U *Taq*-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50  $\mu$ l durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei  $95^{\circ}\text{C}$  für 5 Minuten, gefolgt von 30 Zyklen bei  $94^{\circ}\text{C}$  für 30 Sekunden,  $55^{\circ}\text{C}$  für 1 Minute und  $72^{\circ}\text{C}$  für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei  $72^{\circ}\text{C}$  für 10 Minuten.
- 30

Beispiel 44: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

- 5 Zur Charakterisierung der Funktion der Elongasen aus *Ostreococcus tauri* wurden die offenen Leserahmen der jeweiligen DNAs stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei pOTE1, pOTE1.2, pOTE2 und pOTE2.1 erhalten wurden.

- 10 Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pOTE1, pOTE1.2, pOTE2 bzw. pOTE2.1 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplett-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

- 15 Für die Expression der Ot-Elongasen wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert. 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine OD<sub>600</sub> von 0,05 angeimpft. Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

- 20 Beispiel 45: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- 25 Für die Transformation von Pflanzen wurde ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wurden mittels PCR NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenzen eingefügt. Die entsprechenden Primersequenzen wurden von den 5'- und 3'-Bereich von OtElo1, OtElo1.2, OtElo2 und OtElo2.1 abgeleitet.

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 30 5,00 µL Template cDNA  
5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>  
5,00 µL 2mM dNTP  
1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)  
0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- 35 Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C  
Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C  
Elongationstemperatur: 2 min 72°C  
Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte werden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wird in gleicherweise inkubiert. Anschließend wurden die PCR Produkte sowie der Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgte mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäß Herstellerangaben. Anschliessend wurden Vektor und PCR-Produkte ligiert. Dazu wurde das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Die entstandenen Plasmide pSUN-OtELO1, pSUN-OtELO1.2, pSUN-OtELO2 und pSUN-OtELO2.2 wurden durch Sequenzierung verifiziert.

- 10 pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP [Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. *Plant Mol Biol* 25:989-994]. pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des *Ostreococcus*-Gens aus dem *A. tumefaciens* Ti-Plasmid
- 15 (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti plasmid-encoded octopine synthase gene *J. Mol. Appl. Genet.* 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1 bis 684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region
- 20 des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert.

Primersequenz:

- 25 5'-GTGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC  
GGATCTGCTGGCTATGAA-3'). (SEQ ID NO: 130)

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeichnung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

- 30 Beispiel 46: Expression von OtElo1, OtElo1.2, OtElo2 und OtELO2.2 in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 15 mit den Plasmiden pYES3, pYES3-OtELO1, pYES3-OtELO1.2, pYES3-OtELO2 und pYES3-OtELO2.2 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

- 35 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit

Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-  
5 Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit  
10 entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, Lipids. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, Journal of Experimental Botany. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, Arch. Biochem. Biophys. 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, FEBS Letters. 439(3):215-218.

15 Beispiel 47: Funktionelle Charakterisierung von OtElo1, OtElo1.2, OtElo2 und OtElo2.1:

Die Substratspezifität der OtElo1 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 15). Die gefütterten Substrate sind in großen  
20 Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo1-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen OtElo1 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 15 zeigt, dass OtElo1 bzw. OtElo1.2 eine enge Substratspezifität aufweist. OtElo1 bzw. OtElo1.2 konnte nur die C20-Fettsäuren Eicosapentaensäure (Figur 24A,  
24B) und Arachidonsäure (Figur 25A, 25B) elongieren, bevorzugte aber die ω-3-  
25 desaturierte Eicosapentaensäure.

Tabelle 15 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo1 und OtElo1.2 für C20 polyungesättigte Fettsäuren mit einer Doppelbindung in Δ5 Position gegenüber verschiedenen Fettsäuren.

Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE1 bzw. pOTE1.2 transformiert worden waren,  
30 wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

Die Substratspezifität der OtElo2 (SEQ ID NO: 81) OtElo2.1 (SEQ ID NO: 111) konnte  
35 nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 16). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der OtElo2-Reaktion. Dies bedeutet, dass die Gene OtElo2 und OtElo2.1 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 15:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %) OtElo1	Umsatz (in %) OtElo1.2
16:0	-	-
16:1 <sup>Δ9</sup>	-	-
18:0	-	-
18:1 <sup>Δ9</sup>	-	-
18:1 <sup>Δ11</sup>	-	-
18:2 <sup>Δ9,12</sup>	-	-
18:3 <sup>Δ6,9,12</sup>	-	-
18:3 <sup>Δ5,9,12</sup>	-	-
20:3 <sup>Δ8,11,14</sup>	-	-
20:4 <sup>Δ5,8,11,14</sup>	10,8 ± 0,6	38,0
20:5 <sup>Δ5,8,11,14,17</sup>	46,8 ± 3,6	68,6
22:4 <sup>Δ7,10,13,16</sup>	-	-
22:6 <sup>Δ4,7,10,13,16,19</sup>	-	-

Tabelle 16 zeigt die Substratspezifität der Elongase OtElo2 und OtElo2.1 gegenüber verschiedenen Fettsäuren. OtElo2.1 zeigt eine deutlich höhere Aktivität.

- 5 Die Hefen, die mit dem Vektor pOTE2 bzw. pOTE2.1 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert.

- 10 Die enzymatische Aktivität, die in Tabelle 16 wiedergegeben wird, zeigt klar, dass OtElo2 bzw. OtElo2.1 eine Δ-6-Elongase ist.

Tabelle 16:

Fettsäuresubstrat	Umsatz (in %) OtElo2	Umsatz (in %) OtELO2.2
16:0	-	-
16:1 <sup>Δ9</sup>	-	-
16:3 <sup>Δ7,10,13</sup>	-	-
18:0	-	-
18:1 <sup>Δ6</sup>	-	-
18:1 <sup>Δ9</sup>	-	-
18:1 <sup>Δ11</sup>	-	-
18:2 <sup>Δ9,12</sup>	-	-
18:3 <sup>Δ6,9,12</sup>	15,3	55,7
18:3 <sup>Δ5,9,12</sup>	-	-
18:4 <sup>Δ6,9,12,15</sup>	21,1	70,4
20:2 <sup>Δ11,14</sup>	-	-
20:3 <sup>Δ8,11,14</sup>	-	-
20:4 <sup>Δ5,8,11,14</sup>	-	-
20:5 <sup>Δ5,8,11,14,17</sup>	-	-
22:4 <sup>Δ7,10,13,16</sup>	-	-
22:5 <sup>Δ7,10,13,16,19</sup>	-	-
22:6 <sup>Δ4,7,10,13,16,19</sup>	-	-

Figur 24 A – D zeigt die Elongation von Eicosapentaensäure durch OtElo1 (B) bzw. OtElo1.2 (D). Die Kontrollen (A, C) zeigen nicht das Produkt der Elongation (22:5ω3).

5

Figur 25 A – D zeigt die Elongation von Arachidonsäure durch OtElo1 (B) bzw. OtElo1.2 (D). Die Kontrollen (A, C) zeigen nicht das Produkt der Elongation (22:4ω6).

Beispiel 48: Klonierung von Elongase-Genen aus *Euglena gracilis* und *Arabidopsis thaliana*

- 10 Durch Suche nach konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit Δ-5-Elongaseaktivität oder Δ-6-Elongaseaktivität konnten Sequenzen aus *Arabidopsis thaliana* bzw. *Euglena gracilis*

mit entsprechenden Motiven in Sequenzdatenbanken (Genbank, Euglena EST Bank) identifiziert werden. Es handelt sich dabei um die folgenden Sequenzen:

Gen-Name	SEQ ID	Aminosäuren
EGY1019 (E. gracilis)	SEQ ID NO: 131	262
EGY2019 (E. gracilis)	SEQ ID NO: 133	262
At3g06460 (A. thaliana)	SEQ ID NO: 135	298
At3g06470 (A. thaliana)	SEQ ID NO: 137	278

Die Klonierung der Elongasen aus *Euglena gracilis* wurden wie folgt durchgeführt:

- 5 Der *Euglena gracilis* Stamm 1224-5/25 wurde erhalten von der Sammlung für Algenkulturen Göttingen (SAG). Zur Isolierung wurde der Stamm in Medium II (Calvayrac R and Douce R, FEBS Letters 7:259-262, 1970) für 4 Tage bei 23 °C unter einem Licht-/Dunkelintervall von 8 h / 16 h (35 mol s<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> Lichtstärke) angezogen.

- 10 Gesamt-RNA von einer viertägigen *Euglena* Kultur wurde mit Hilfe des RNAeasy Kits der Firma Qiagen (Valencia, CA, US) isoliert. Aus der Gesamt-RNA wurde mit Hilfe von oligo-dT-Cellulose poly-A<sup>+</sup> RNA (mRNA) isoliert (Sambrook et al., 1989). Die RNA wurde mit dem Reverse Transcription System Kit von Promega revers transkribiert und die synthetisierte cDNA in den lambda ZAP Vektor (lambda ZAP Gold, Stratagene) kloniert. Entsprechend der Herstellerangaben wurde die cDNA zur Plasmid-DNA entpackt und Klone wurden zur Zufallssequenzierung ansequenziert. Aus der Gesamt-
- 15 RNA wurde mit Hilfe des PolyATract Isolierungssystems (Promega) mRNA isoliert. Die mRNA wurde mit dem Marathon cDNA Amplification-Kit (BD Biosciences) reverse transkribiert und entsprechend der Herstellerangaben wurden die Adaptoren ligiert. Die cDNA-Bank wurde dann für die PCR zur Klonierung von Expressionsplasmiden mittels 5'- und 3'-RACE (rapid amplification of cDNA ends) verwendet.

- 20 Die Klonierung der Elongasen aus *Arabidopsis thaliana* wurde wie folgt durchgeführt:

Ausgehend von der genomischen DNA wurden für die beiden Gene Primer entsprechend am 5'- und 3'-Ende des offenen Leserahmens abgeleitet.

- 25 Zur Isolierung von Gesamt-RNA aus *A. thaliana* wurde nach Chirgwin et al., (1979) verfahren. Blätter von 21 Tage alten Pflanzen wurden in flüssigem Stickstoff zermört, mit Aufschlusspuffer versetzt und für 15 min bei 37 °C inkubiert. Nach Zentrifugation (10 min, 4 °C, 12000xg) wurde die RNA im Überstand mit 0,02 Volumen 3 M Natriumacetat pH 5,0 und 0,75 Volumen Ethanol bei -20 °C für 5 h präzipitiert. Die RNA wurde dann nach einem weiteren Zentrifugationsschritt in 1 mL TES pro g Ausgangsmaterial aufgenommen, einmal mit einem Volumen Phenol-Chloroform und
- 30 einmal mit einem Volumen Chloroform extrahiert und die RNA mit 2,5 M LiCl gefällt. Nach anschliessendem Zentrifugieren und Waschen mit 80 %igem Ethanol wurde die RNA in Wasser resuspendiert. Entsprechend Sambrook et al. 1989 wurde die cDNA



synthetisiert und RT-PCR mit den abgeleiteten Primer durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden nach Herstellerangaben in den Vektor pYES2.1-TOPO (Invitrogen) kloniert.

Beispiel 49: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in Hefen:

- 5 Zur Charakterisierung der Funktion der Elongasen aus *A. thaliana* wurden die offenen Leserahmen der jeweiligen DNAs stromabwärts des Galactose-induzierbaren GAL1-Promotors von pYES2.1/V5-His-TOPO (Invitrogen) kloniert, wobei pAt60 und pAt70 erhalten wurden.
- 10 Der *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm 334 wurde durch Elektroporation (1500 V) mit dem Vektor pAt60 bzw. pAt70 transformiert. Als Kontrolle wurde eine Hefe verwendet, die mit dem leeren Vektor pYES2.1 transformiert wurde. Die Selektion der transformierten Hefen erfolgte auf Komplett-Minimalmedium (CMdum)-Agarplatten mit 2% Glucose, aber ohne Uracil. Nach der Selektion wurden je drei Transformanten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.
- 15 Für die Expression der At-Elongasen wurden zunächst Vorkulturen aus jeweils 5 ml CMdum-Flüssigmedium mit 2% (w/v) Raffinose aber ohne Uracil mit den ausgewählten Transformanten angeimpft und 2 Tage bei 30°C, 200 rpm inkubiert.
- 5 ml CMdum-Flüssigmedium (ohne Uracil) mit 2% Raffinose und 300 µM verschiedener Fettsäuren wurden dann mit den Vorkulturen auf eine OD<sub>600</sub> von 0,05 angeimpft.
- 20 Die Expression wurde durch die Zugabe von 2% (w/v) Galactose induziert. Die Kulturen wurden für weitere 96 h bei 20°C inkubiert.

Beispiel 50: Expression von pAt60 und pAt70 in Hefen

Hefen, die wie unter Beispiel 5 mit den Plasmiden pYES2.1, pAt60 bzw. pAt70 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

- 25 Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethylester (FAMES) durch saure Methanolyse hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei
- 30 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organischen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest. gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-
- 35 Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C(halten) programmiert.

- Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, Lipids. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, Journal of Experimental Botany. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, Arch. Biochem. Biophys. 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, FEBS Letters. 439(3):215-218.

Beispiel 51: Funktionelle Charakterisierung von pAt60 und pAt70

- Die Substratspezifität der Elongasen At3g06460 bzw. At3g06470 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Tab. 17, Fig. 26). Die gefütterten Substrate sind in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der Gene At3g06460 bzw. At3g06470. Dies bedeutet, dass diese Gene funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 17: Elongation von EPA durch die Elongasen At3g06460 bzw. At3g06470. Messung der Hefeextrakte nach Fütterung mit 250  $\mu$ M EPA.

Gen	Gefütterte Fettsäure	Gehalt an C20:5n-3	Gehalt an C22:5n-3
At3g06460	EPA (C20:5n-3)	20,8	0,6
At3g06460	EPA (C20:5n-3)	25,4	1,1
Konversionsrate von EPA		At3g06460: 3,0 %	At3g06470: 4,1 %

15

Figur 26 gibt die Elongation von 20:5n-3 durch die Elongasen At3g06470 wieder.

Beispiel 52: Klonierung einer Elongase aus *Phaeodactylum tricornutum*

- Ausgehend von konservierten Bereichen in den Proteinsequenzen mit Hilfe der in der Anmeldung aufgeführten Elongase-Gene mit  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität wurden degenerierte Primer hergestellt und mit diesen eine *Phaeodactylum* cDNA Bank mittels PCR durchsucht. Folgende Primer-Sequenzen wurden eingesetzt:

Primer-Name	Sequenz 5'-3' Orientierung	Korrespondierende Aminosäuren
Phaelo forward1	AA(C/T)CTUCTUTGGCTUTT(C/T)TA (SEQ ID NO. 185)	NLLWLFY
Phaelo reverse1	GA(C/T)TGUAC(A/G)AA(A/G)AA(C/T)TGUG C(A/G)AA (SEQ ID NO. 186)	FAQFFVQS

20

Nukleotidbasen in Klammern bedeuten, dass eine Mischung von Oligonukleotiden mit jeweils der einen oder anderen Nukleotidbase vorliegen.

Herstellung der *Phaeodactylum* cDNA Bank:

- 5 Eine 2 L Kultur von *P. tricornutum* UTEX 646 wurde in f/2 Medium (Guillard, R.R.L. 1975. *Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates*. In *Culture of Marine Invertebrate Animals* (Eds. Smith, W.L. and Chanley, M.H.), Plenum Press, New York, pp 29–60.) für 14 d (= Tage) bei einer Lichtstärke von 35 E/cm<sup>2</sup> angezogen. Gefrorene Zellen wurden nach Zentrifugation in der Gegenwart von flüssigem Stickstoff zu einem feinen Pulver gemahlen und mit 2 mL Homogenisierungspuffer (0,33 M Sorbitol, 0,3 M NaCl, 10 mM EDTA, 10 mM EGTA, 2% SDS, 2% Mercaptoethanol in 0,2 M Tris-Cl pH 8,5) resuspendiert. Nach Zugabe von 4 mL Phenol und 2 mL Chloroform wurde 15 min kräftig bei 40–50 °C geschüttelt. Anschliessend wurde zentrifugiert (10 min x 10000g) und die wässrige Phase schrittweise mit Chloroform extrahiert. Nukleinsäuren wurden.
- 10 dann durch Zugabe von 1/20 Volumen 4 M Natriumhydrogencarbonatlösung gefällt und zentrifugiert. Das Pellet wurde in 80 mM Tris-borat pH 7,0 und 1 mM EDTA aufgenommen und die RNA mit 8 M Lithiumchlorid gefällt. Nach Zentrifugation und Waschen mit 70%igem Ethanol wurde das RNA-Pellet mit Rnase-freiem Wasser aufgenommen. Poly(A)-RNA wurde mit Dynabeads (Dyna, Oslo, Norwegen) nach Herstellerangaben
- 15 isoliert und die Erst-Strang-cDNA-Synthese mit MLV-Rtase von Roche (Mannheim) durchgeführt. Die Zweit-Strang-Synthese erfolgte dann mittels DNA Polymerase I und Klenow Fragment, gefolgt von einem RnaseH Verdau. Die cDNA wurde mit T4 DNA Polymerase behandelt und anschliessend EcoRI/XhoI Adaptoren (Pharmacia, Freiburg) mittels T4 Ligase angehängt. Nach XhoI Verdau, Phosphorylierung und Geltrennung wurden Fragmente grösser als 300 bp entsprechend der Herstellerangaben in
- 20 den lambda ZAP Express Phagen ligiert (Stratagene, Amsterdam, Niederlande). Nach Massenexcision der cDNA-Bank und Plasmid-Rückgewinnung wurde die Plasmid-Bank in *E. coli* DH10B Zellen transformiert und zur PCR-Sichtung eingesetzt.

- 25 Mittels den oben genannten degenerierten Primern konnte das PCR-Fragment mit der Sequenznummer SEQ ID NO: 187 generiert werden.

Dieses Fragment wurde mit Digoxigenin markiert (Roche, Mannheim) und als Sonde für die Sichtung der Phagen-Bank verwendet.

- 30 Mit Hilfe der Sequenz SEQ ID NO: 187 konnte die Gensequenz SEQ ID NO: 183 erhalten werden, die das Vollängen-RNA-Molekül der  $\Delta 6$ -Elongase von *Phaeodactylum* darstellt:

Beispiel 53: Klonierung von Expressionsplasmiden zur heterologen Expression in - Hefen

Die entsprechenden Primerpaare wurden so ausgewählt, dass sie die Hefe-Konsensus-Sequenz für hocheffiziente Translation (Kozak, Cell 1986, 44:283-292)

- neben dem Startcodon trugen. Die Amplifizierung der PtELO6-DNA wurde jeweils mit 1 µL cDNA, 200 µM dNTPs, 2,5 U Advantage-Polymerase und 100 pmol eines jeden Primers in einem Gesamtvolumen von 50 µl durchgeführt. Die Bedingungen für die PCR waren wie folgt: Erste Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 30
- 5 Zyklen bei 94°C für 30 Sekunden, 55°C für 1 Minute und 72°C für 2 Minuten sowie ein letzter Verlängerungsschritt bei 72°C für 10 Minuten.

Für die Klonierung der Sequenz zur heterologen Expression in Hefen wurden folgende Oligonukleotide für die PCR-Reaktion verwendet:

Gen-Name und SEQ ID NO:	Primersequenz
PtELO6 (SEQ ID NO: 183)	F: 5'-GCGGCCGCACATAATGATGGTACCTTCAAG (SEQ ID NO: 188)  R: 3'-GAAGACAGCTTAATAGACTAGT (SEQ ID NO: 189)

\*F=forward primer, R=reverse primer

- 10 Die PCR Produkte wurden für 30 min bei 21 °C mit dem Hefe-Expressionsvektor - pYES2.1-TOPO (Invitrogen) gemäß Herstellerangaben inkubiert. Das PCR-Produkt (siehe SEQ ID NO: 192) wurde dabei durch einen T-Überhang und Aktivität einer
- 15 Topoisomerase (Invitrogen) in den Vektor ligiert. Nach der Inkubation erfolgte dann die Transformation von E. coli DH5α Zellen. Entsprechende Klone wurden durch PCR - identifiziert, die Plasmid-DNA mittels Qiagen DNAeasy-Kit isoliert und durch Sequen-
- 20 zierung verifiziert. Die korrekte Sequenz wurde dann in den Saccharomyces Stamm INVSc1 (Invitrogen) durch Elektroporation (1500 V) transformiert. Zur Kontrolle wurde der leere Vektor pYES2.1 parallel transformiert. Anschließend wurden die Hefen auf Komplet-Minimalmedium ohne Uracil mit 2 % Glucose ausplattiert. Zellen, die ohne
- Uracil im Medium wachstumsfähig waren, enthalten damit die entsprechenden Plasmide pYES2.1 und pYES2.1-PtELO6. Nach der Selektion wurden je zwei Trans-
- formaten zur weiteren funktionellen Expression ausgewählt.

Beispiel 54: Klonierung von Expressionsplasmiden zur Samen-spezifischen Expression in Pflanzen

- 25 Für die Transformation von Pflanzen wird ein weiterer Transformationsvektor auf Basis von pSUN-USP erzeugt. Dazu wird mit folgendem Primerpaar NotI-Schnittstellen am 5' und 3'-Ende der kodierenden Sequenz eingefügt:

PtELO6

Forward: 5'-GCGGCCGCACCATGATGGTACCTTCAAGTTA (SEQ ID NO: 190)

- 30 Reverse: 3'-GAAGACAGCTTAATAGCGGCCGC (SEQ ID NO: 191)

Zusammensetzung des PCR-Ansatzes (50 µL):

- 5,00 µL Template cDNA
- 5,00 µL 10x Puffer (Advantage-Polymerase)+ 25mM MgCl<sub>2</sub>
- 5,00 µL 2mM dNTP
- 5 1,25 µL je Primer (10 pmol/µL)
- 0,50 µL Advantage-Polymerase

Die Advantage-Polymerase von Clontech wurden eingesetzt.

Reaktionsbedingungen der PCR:

- Anlagerungstemperatur: 1 min 55°C
- 10 Denaturierungstemperatur: 1 min 94°C
- Elongationstemperatur: 2 min 72°C
- Anzahl der Zyklen: 35

Die PCR Produkte werden für 16 h bei 37 °C mit dem Restriktionsenzym NotI inkubiert. Der Pflanzen-Expressionsvektor pSUN300-USP wird in gleicherweise inkubiert.

- 15 Anschliessend werden die PCR Produkte sowie der 7624 bp große Vektor durch Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt und die entsprechenden DNA-Fragmente ausgeschnitten. Die Aufreinigung der DNA erfolgt mittels Qiagen Gel Purification Kit gemäss Herstellerangaben. Anschließend werden Vektor und PCR-Produkte ligiert.
- 20 Dazu wird das Rapid Ligation Kit von Roche verwendet. Das entstandene Plasmide pSUN-PtELO wird durch Sequenzierung verifiziert.

- pSUN300 ist ein Derivat des Plasmides pPZP (Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small versatile pPZP family of Agrobacterium binary vectors for plant transformation. Plant Mol Biol 25:989-994). pSUN-USP entstand aus pSUN300, indem in pSUN300 ein USP-Promotor als EcoRI- Fragment inseriert wurde. Das Polyadenylierungssignal ist das des Octopinsynthase-Gens aus dem A. tumefaciens Ti-Plasmid (ocs-Terminator, Genbank Accession V00088) (De Greve, H., Dhaese, P., Seurinck, J., Lemmers, M., Van Montagu, M. and Schell, J. Nucleotide sequence and transcript map of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid-encoded octopine synthase gene J. Mol. Appl. Genet. 1 (6), 499-511 (1982). Der USP-Promotor entspricht den Nukleotiden 1-684 (Genbank Accession X56240), wobei ein Teil der nichtcodierenden Region des USP-Gens im Promotor enthalten ist. Das 684 Basenpaar große Promotorfragment wurde mittels käuflichen T7-Standardprimer (Stratagene) und mit Hilfe eines synthetisierten Primers über eine PCR-Reaktion nach Standardmethoden amplifiziert.

- (Primersequenz: 5'-
- 35 GTCGACCCGCGGACTAGTGGGCCCTCTAGACCCGGGGGATCC
- GGATCTGCTGGCTATGAA-3'; SEQ ID NO: 151).

Das PCR-Fragment wurde mit EcoRI/Sall nachgeschnitten und in den Vektor pSUN300 mit OCS Terminator eingesetzt. Es entstand das Plasmid mit der Bezeich-

nung pSUN-USP. Das Konstrukt wurde zur Transformation von *Arabidopsis thaliana*, Raps, Tabak und Leinsamen verwendet.

Die Lipidextraktion aus Hefen und Samen erfolgte identisch zu Beispiel 6.

### Beispiel 55: Expression von PtElo in Hefen

- 5 Hefen, die wie unter Beispiel 4 mit den Plasmiden pYES2 und pYES2-PIELO6 transformiert wurden, wurden folgendermaßen analysiert:

Die Hefezellen aus den Hauptkulturen wurden durch Zentrifugation (100 x g, 5 min, 20°C) geerntet und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 gewaschen, um restliches Medium und Fettsäuren zu entfernen. Aus den Hefe-Zellsedimenten wurden Fettsäuremethyl-  
10 ester (FAMES) durch saure Methanolysen hergestellt. Hierzu wurden die Zellsedimente mit 2 ml 1 N methanolischer Schwefelsäure und 2% (v/v) Dimethoxypropan für 1 h bei 80°C inkubiert. Die Extraktion der FAMES erfolgte durch zweimalige Extraktion mit Petrolether (PE). Zur Entfernung nicht derivatisierter Fettsäuren wurden die organi-  
schen Phasen je einmal mit 2 ml 100 mM NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,0 und 2 ml Aqua dest.  
15 gewaschen. Anschließend wurden die PE-Phasen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, unter Argon eingedampft und in 100 µl PE aufgenommen. Die Proben wurden auf einer DB-23-Kapillarsäule (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm, Agilent) in einem Hewlett-Packard 6850-Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor getrennt. Die Bedingungen für  
die GLC-Analyse waren wie folgt: Die Ofentemperatur wurde von 50°C bis 250°C mit  
20 einer Rate von 5°C/min und schließlich 10 min bei 250°C (halten) programmiert.

Die Identifikation der Signale erfolgte durch Vergleiche der Retentionszeiten mit entsprechenden Fettsäurestandards (Sigma). Die Methodik ist beschrieben zum Beispiel in Napier and Michaelson, 2001, *Lipids*. 36(8):761-766; Sayanova et al., 2001, *Journal of Experimental Botany*. 52(360):1581-1585, Sperling et al., 2001, *Arch. Biochem. Biophys.* 388(2):293-298 und Michaelson et al., 1998, *FEBS Letters*. 439(3):215-218.

Beispiel 56: Funktionelle Charakterisierung von PtELO6:

In Figur 29 ist die Umsetzung von C18:3<sup>Δ6,9,12</sup> und C18:4<sup>Δ6,9,12,15</sup> wiedergegeben. Die Substrate werden um je zwei Kohlenstoffatome elongiert es entstehen jeweils die Fettsäuren C20:3<sup>Δ8,11,14</sup> bzw. C20:4<sup>Δ8,11,14,17</sup>. Die Substratspezifität von PtELO6 konnte nach Expression und Fütterung verschiedener Fettsäuren ermittelt werden (Fig. 30). Die gefütterten Substrate sind in großen Mengen in allen transgenen Hefen nachzuweisen. Die transgenen Hefen zeigten die Synthese neuer Fettsäuren, den Produkten der PtELO6-Reaktion. Dies bedeutet, dass das Gen PtELO6 funktional exprimiert werden konnte.

Tabelle 18 zeigt, dass die PtELO6 eine enge Substratspezifität aufweist. PtELO6 konnte nur die C18-Fettsäuren Linolsäure, Linolensäure,  $\gamma$ -Linolensäure und Stearidonsäure elongieren, bevorzugte aber die  $\omega$ -3-desaturierte Stearidonsäure (siehe auch Figur 30).

Fütterungsexperiment: Fettsäuren (fett) wurden jeweils mit 250  $\mu$ M zugegeben. Die unterstrichenen Fettsäuren wurden neu gebildet.

Tabelle 18: Substratspezifität der PtElo6

gefütterte Fettsäure:		+ 18:2	+ 18:3	+ 18:3	+ 18:4
16:0	16,2	18,2	15,2	20	04:48
16:1	50,6	20,5	22,8	33,5	34,2
18:0	5,4	6,3	6,2	5,2	12,4
18:1	27,7	14,6	19,6	19,3	16,7
18:2		40			
18:3			32,9		
18:3				12,3	
18:4					4,5
20:2		<u>0,4</u>			
20:3			<u>3,4</u>		
20:3				<u>9,7</u>	
20:4					<u>14,5</u>
% Elongation	0,0	0,99	9,37	44,09	76,32

5 Folgende Fettsäuren wurden gefüttert, aber nicht umgesetzt:

- 18:1 <sup>$\Delta 6$</sup> , 18:1 <sup>$\Delta 9$</sup> , 18:1 <sup>$\Delta 11$</sup>
- 20:2 <sup>$\Delta 11,14$</sup> , 20:3 <sup>$\Delta 11,14,17$</sup> , 20:3 <sup>$\Delta 8,11,14$</sup> , 20:4 <sup>$\Delta 5,8,11,14$</sup> , 20:5 <sup>$\Delta 5,8,11,14,17$</sup>
- 22:4 <sup>$\Delta 7,10,13,16$</sup>

10 Die Hefen, die mit dem Vektor pYES2-PtELO6 transformiert worden waren, wurden in Minimalmedium in Gegenwart der angegebenen Fettsäuren kultiviert. Die Synthese der Fettsäuremethylester erfolgte durch saure Methanolyse intakter Zellen. Anschließend wurden die FAMES über GLC analysiert. So wurden die Ergebnisse, die in den Figuren 29 und 30 sowie in der Tabelle 16 dargestellt wurden, ermittelt.

Äquivalente:

15 Der Fachmann erkennt oder kann viele Äquivalente der hier beschriebenen erfindungsgemäßen spezifischen Ausführungsformen feststellen, indem er lediglich Routineexperimente verwendet. Diese Äquivalente sollen von den Patentansprüchen umfasst sein.

Tabelle 3: Umsetzungsraten der gefütterten Fettsäuren. Die Konversionsraten wurden berechnet nach der Formel:  

$$[\text{Konversionsrate}] = \frac{[\text{Produkt}]}{([\text{Substrat}] + [\text{Produkt}])} \cdot 100.$$

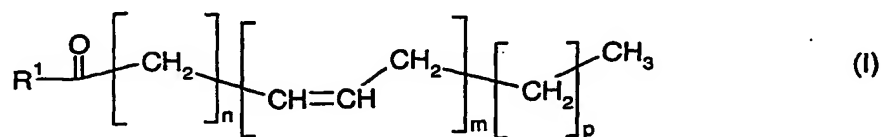
[Konversionsrate]= [Frouku]/[Gubstrat] · 100%

BioTaur-Klone Fläche in % der GC-Analyse														
Clone	Fett-säure	C16:0	C16:1 (n-7)	C18:0	C18:1 (n-9)	C18:3 (n-6)	C18:4 (n-3)	C20:3 (n-6)	C20:4 (n-6)	C20:4 (n-3)	C20:5 (n-3)	C22:4 (n-6)	C22:4 (n-3)	C22:5 (n-3)
Vector	keine	21.261	41.576	4.670	25.330									
BioTaur	Keine	20.831	37.374	4.215	26.475									
Vector	GLA + EPA	22.053	23.632	5.487	17.289	11.574					13.792			
BioTaur	GLA + EPA	20.439	25.554	6.129	19.587	3.521		6.620			10.149			1.127
Vector	EPA	20.669	28.985	6.292	21.712						16.225			
BioTaur	EPA	20.472	26.913	6.570	23.131						11.519			3.251
Vector	ARA	23.169	23.332	6.587	12.735				27.069					
BioTaur	ARA	20.969	31.281	5.367	21.351				9.648			1.632		
Vector	SDA	18.519	12.626	6.642	6.344		47.911							
BioTaur	SDA	19.683	15.878	7.246	8.403		13.569			25.946			0.876	



## Patentansprüche

## 1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I

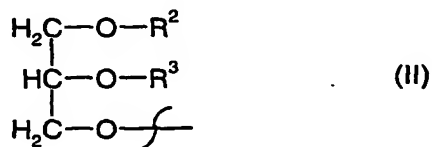


in transgenen Organismen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% dieser Verbindungen bezogen auf den Gesamtlipidgehalt des transgenen Organismus, dadurch gekennzeichnet, dass es folgende Verfahrensschritte umfasst:

- a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -9-Elongase- oder eine  $\Delta$ -6-Desaturase-Aktivität codiert, und
- b) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -8-Desaturase- oder eine  $\Delta$ -6-Elongase-Aktivität codiert, und
- c) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -5-Desaturase-Aktivität codiert, und
- d) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -5-Elongase-Aktivität codiert, und
- e) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in den Organismus, welche für eine  $\Delta$ -4-Desaturase-Aktivität codiert, und

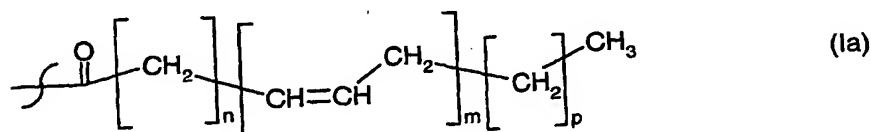
wobei die Variablen und Substituenten in der Formel I die folgende Bedeutung haben:

$R^1$  = Hydroxyl-, CoenzymA-(Thioester), Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol-, Sphingobase-, oder einen Rest der allgemeinen Formel II



$R^2 =$  Wasserstoff-, Lyso-Phosphatidylcholin-, Lyso-Phosphatidylethanolamin-, Lyso-Phosphatidylglycerol-, Lyso-Diphosphatidylglycerol-, Lyso-Phosphatidylserin-, Lyso-Phosphatidylinositol- oder gesättigtes oder ungesättigtes  $C_2$ - $C_{24}$ -Alkylcarbonyl-,

5  $R^3 =$  Wasserstoff-, gesättigtes oder ungesättigtes  $C_2$ - $C_{24}$ -Alkylcarbonyl-, - oder  $R^2$  oder  $R^3$  unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia:



$n = 2, 3, 4, 5, 6, 7$  oder  $9$ ,  $m = 2, 3, 4, 5$  oder  $6$  und  $p = 0$  oder  $3$ .

10 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus:

15 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Sequenz, oder

30 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von den in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38,

35

- 5 SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46,  
SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54,  
SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66,  
SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74,  
SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ  
ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID  
NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO:  
102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO:  
118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO:  
10 136, SEQ ID NO: 138 oder SEQ ID NO: 184 dargestellten Aminosäure-  
sequenzen ableiten lassen, oder
- 15 c) Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID  
NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15,  
SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23,  
SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31,  
SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39,  
SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47,  
SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 59,  
SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67,  
20 SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75,  
SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ  
ID NO: 85, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID  
NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO:  
103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO:  
25 119, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO:  
137 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für  
Polypeptide mit mindestens 40 % Identität auf Aminosäureebene mit  
SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID  
NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO:  
30 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26,  
SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34,  
SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42,  
SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50,  
SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62,  
35 SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70,  
SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78,  
SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ  
ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID  
NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID  
40 NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID  
NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138 oder  
SEQ ID NO: 184 codieren und eine  $\Delta$ -9-Elongase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -  
8-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Elongase- oder  $\Delta$ -  
4-Desaturaseaktivität aufweisen.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich in den Organismus eine Nukleinsäuresequenz eingebracht wird, die für Polypeptide mit  $\omega$ 3-Desaturasaktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
- 5 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz, oder
  - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
  - 10 c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 codieren und eine  $\omega$ 3-Desaturasaktivität aufweisen.
- 15 4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich in den Organismus eine Nukleinsäuresequenz eingebracht wird, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -12-Desaturasaktivität codiert, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
- 20 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz, oder
  - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
  - 25 c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine  $\Delta$ -12-Desaturasaktivität aufweisen.
- 30 5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten  $R^2$  oder  $R^3$  unabhängig voneinander gesättigtes oder ungesättigtes  $C_{18}$ - $C_{22}$ -Alkylcarbonyl- bedeuten.
6. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten  $R^2$  oder  $R^3$  unabhängig voneinander ungesättigtes  $C_{18}$ -,  $C_{20}$ - oder  $C_{22}$ -Alkylcarbonyl- mit mindestens zwei Doppelbindungen bedeuten.
- 35 7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass der transgene Organismus ein transgener Mikroorganismus oder eine transgene Pflanze ist.

8. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass der transgene Organismus eine Öl-produzierende Pflanze, eine Gemüsepflanze oder Zierpflanze ist.
- 5 9. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die transgene Organismus eine transgene Pflanze ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzenfamilien: Adelotheceaceae, Anacardiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Betulaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Caricaceae, Cannabaceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae, Crypthecodiniaceae, Cucurbitaceae, Ditrichaceae, Elaeagnaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Gramineae, Juglandaceae, Lauraceae, Leguminosae, Linaceae oder  
10 Prasinophyceae ist.
10. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I aus dem Organismus in Form ihrer Öle, Lipide oder freien Fettsäuren isoliert werden.
- 15 11. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I in einer Konzentration von mindestens 5 Gew.-% bezogenen auf den gesamten Lipidgehalt des transgenen Organismus isoliert werden.
- 20 12. Öl, Lipide oder Fettsäuren oder eine Fraktion davon, hergestellt durch das Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11.
13. Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung, die PUFAs hergestellt nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11 umfasst und von transgenen Pflanzen stammt.
- 25 14. Verfahren zur Herstellung von Ölen, Lipiden oder Fettsäurezusammensetzungen durch Mischen von Öl, Lipide oder Fettsäuren gemäß Anspruch 12 oder Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung gemäß Anspruch 13 mit tierischen Ölen, Lipiden oder Fettsäuren.
- 30 15. Verwendung von Öl, Lipide oder Fettsäuren gemäß Anspruch 12 oder Öl-, Lipid- oder Fettsäurezusammensetzung gemäß Anspruch 13 oder Ölen, Lipiden oder Fettsäurezusammensetzungen hergestellt gemäß Anspruch 14 in Futter, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika.
- 35 16. Isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität codiert und die eine Aminosäuresequenz enthält ausgewählt aus der Gruppe einer Aminosäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141 oder SEQ ID NO: 142 dargestellten Sequenz.

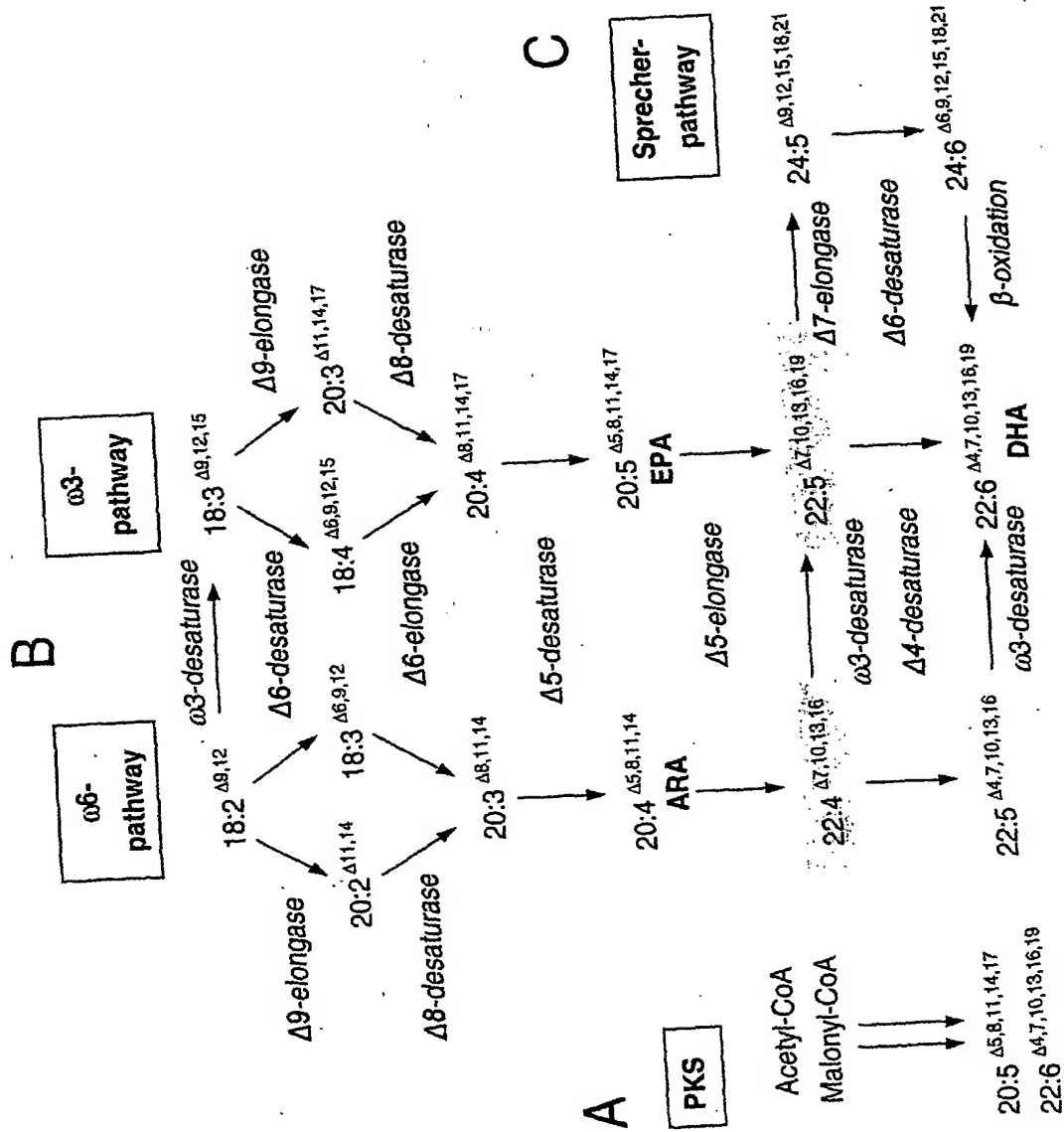
17. Isolierte Nukleinsäuresequenz gemäß Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität codiert, eine Kombination der Aminosäuresequenzen enthält ausgewählt aus der Gruppe:
- 5 a) SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 115 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140; oder
- b) SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 116 und SEQ ID NO: 142 oder SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142; oder
- 10 c) SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 139 und SEQ ID NO: 140 oder SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 141 und SEQ ID NO: 142.
18. Isolierte Nukleinsäuresequenzen gemäß Anspruch 16 oder 17, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität codieren, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenz ausgewählt ist aus der Gruppe:
- 15 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Sequenz,
- 20 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 25 c) Derivate der in SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 131 oder SEQ ID NO: 133 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 132 oder SEQ ID NO: 134 codieren und eine  $\Delta$ -5-Elongaseaktivität aufweisen.
- 30
- 35

19. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- 5 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 111 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 112 oder SEQ ID NO: 184 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 10 c) Derivate der in SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 111 oder SEQ ID NO: 183 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 112 oder SEQ ID NO: 184 codieren und eine  $\Delta$ -6-Elongaseaktivität aufweisen.
20. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\omega$ -3-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- 15 a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- 20 c) Derivate der in SEQ ID NO: 87 oder SEQ ID NO: 105 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 60 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 88 oder SEQ ID NO: 106 aufweisen und eine  $\omega$ -3-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 25
21. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -6-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 89 oder in SEQ ID NO: 97 dargestellten Sequenz,
- 30 b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
- c) Derivate der in SEQ ID NO: 89 oder SEQ ID NO: 97 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 90 oder SEQ ID NO: 98 codieren und eine  $\Delta$ -6-Desaturaseaktivität aufweisen.
- 35

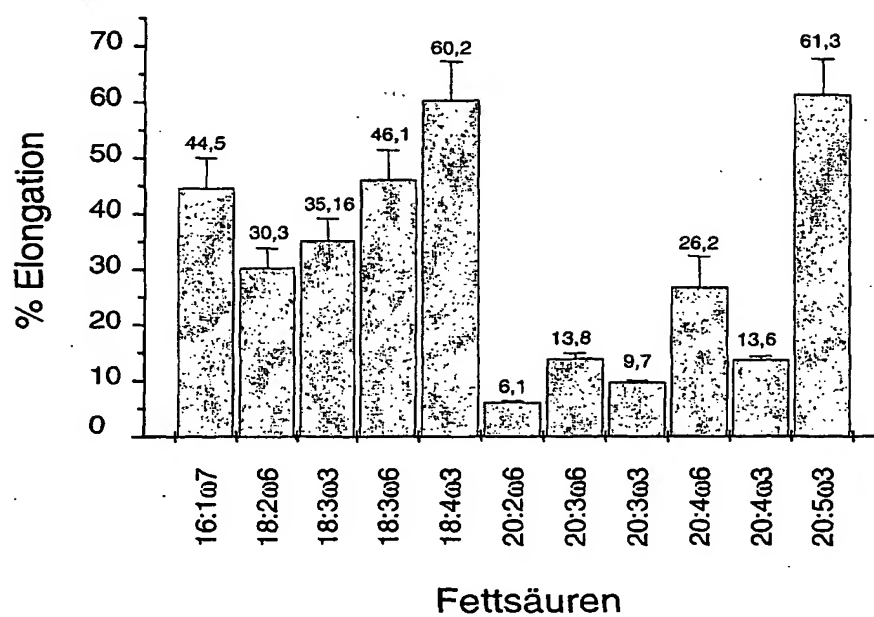
22. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -5-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Sequenz,
  - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
  - c) Derivate der in SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 99 oder in SEQ ID NO: 101 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 100 oder in SEQ ID NO: 102 codieren und eine  $\Delta$ -5-Desaturaseaktivität aufweisen.
23. Isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 95 oder in SEQ ID NO: 103 dargestellten Sequenz,
  - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
  - c) Derivate der in SEQ ID NO: 95 oder SEQ ID NO: 103 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 40 % Homologie auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 96 oder SEQ ID NO: 104 codieren und eine  $\Delta$ -4-Desaturaseaktivität aufweisen.
24. Isolierte Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit  $\Delta$ -12-Desaturaseaktivität codieren, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:
- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Sequenz, oder
  - b) Nukleinsäuresequenzen, die sich als Ergebnis des degenerierten genetischen Codes von der in SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 dargestellten Aminosäuresequenz ableiten lassen, oder
  - c) Derivate der in SEQ ID NO: 107 oder SEQ ID NO: 109 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit mindestens 50 % Identität auf Aminosäureebene mit SEQ ID NO: 108 oder SEQ ID NO: 110 codieren und eine  $\Delta$ -12-Desaturaseaktivität aufweisen.



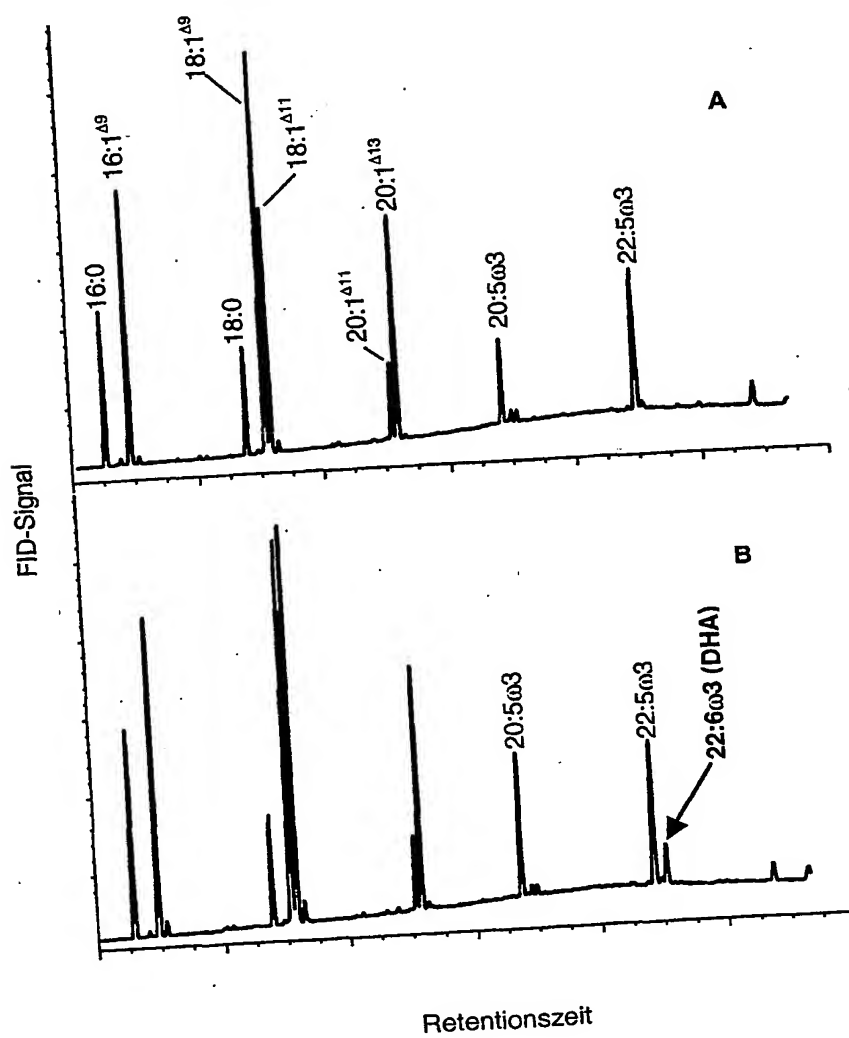
25. Isolierte Nukleinsäuresequenz nach den Ansprüchen 16 bis 24, wobei die Sequenz von einer Alge, einem Pilz, einem Mikroorganismus, einer Pflanze oder einem nicht-humanen Tier stammt.
- 5 26. Isolierte Nukleinsäuresequenz nach den Ansprüchen 16 bis 25, wobei die Sequenz aus der Ordnung Salmoniformes, den Diatomeengattungen Thalassiosira oder Crythecodinium oder aus der Familie der Prasinophyceae, Euglenaceae oder Pythiaceae stammt.
27. Aminosäuresequenz, die von einer isolierten Nukleinsäuresequenz nach einem der Ansprüche 16 bis 26 codiert wird.
- 10 28. Genkonstrukt, enthaltend eine isolierte Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 16 bis 26, wobei die Nukleinsäure funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen verbunden ist.
- 15 29. Genkonstrukt nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäurekonstrukt zusätzliche Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n).
- 20 30. Genkonstrukt nach Anspruch 28 oder 29, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäurekonstrukt zusätzliche Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe der  $\Delta$ -4-Desaturase-,  $\Delta$ -5-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Desaturase-,  $\Delta$ -8-Desaturase-,  $\Delta$ -9-Desaturase-,  $\Delta$ -12-Desaturase-,  $\Delta$ -6-Elongase- oder  $\Delta$ -9-Elongase.
- 25 31. Vektor, enthaltend eine Nukleinsäure nach den Ansprüchen 16 bis 26 oder ein Genkonstrukt nach den Ansprüchen 28 bis 30.
- 30 32. Transgener nicht-humaner Organismus, enthaltend mindestens eine Nukleinsäure nach den Ansprüchen 16 bis 26, ein Genkonstrukt nach den Ansprüchen 28 bis 30 oder einen Vektor nach Anspruch 31.
33. Transgener nicht-humaner Organismus nach Anspruch 32, wobei der Organismus ein Mikroorganismus, ein nicht-humanes Tier oder eine Pflanze ist.
- 35 34. Transgener nicht-humaner Organismus nach Anspruch 32 oder 33, wobei der Organismus eine Pflanze ist.

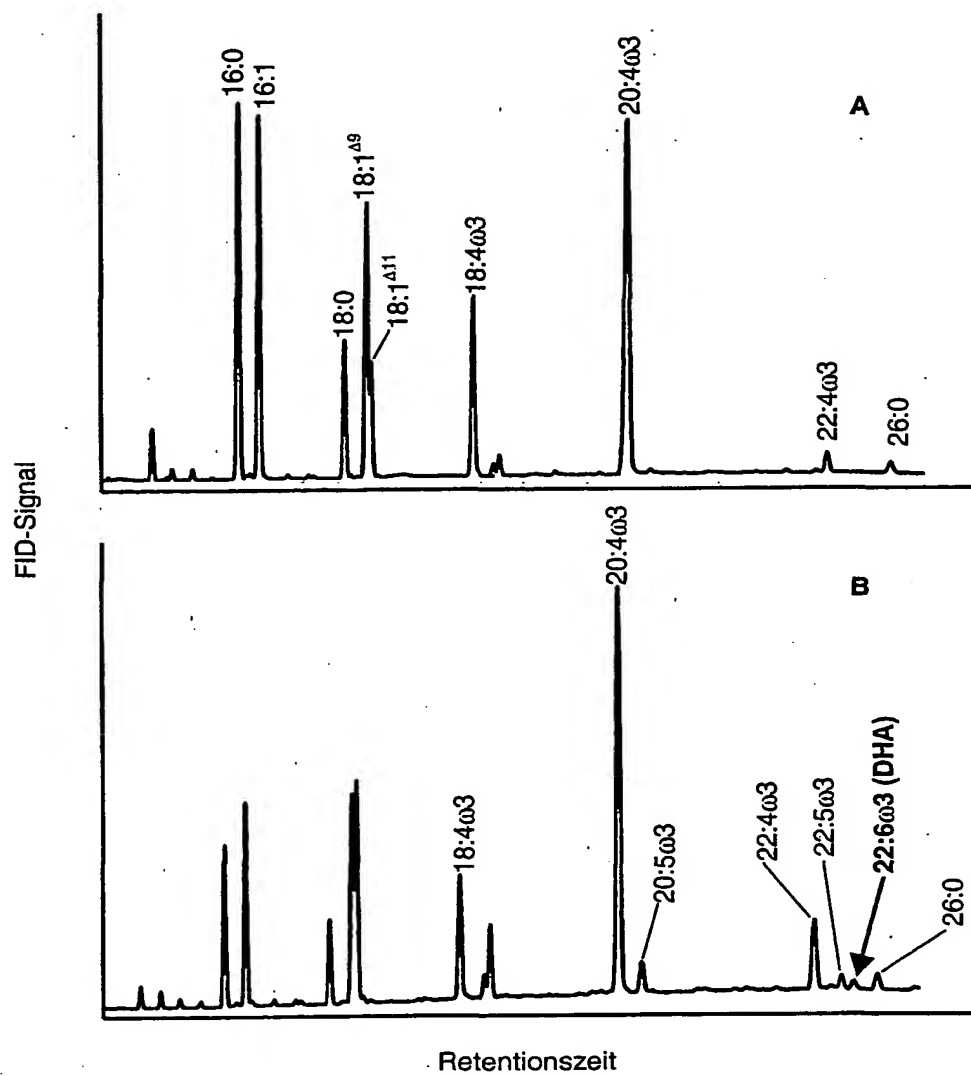


Figur 2: Substratspezifität der  $\Delta$ -5-Elongase (SEQ ID NO: 53) gegenüber verschiedenen Fettsäuren



Figur 3: Rekonstitution der DHA-Biosynthese in Hefe ausgehend von 20:5 $\omega$ 3.

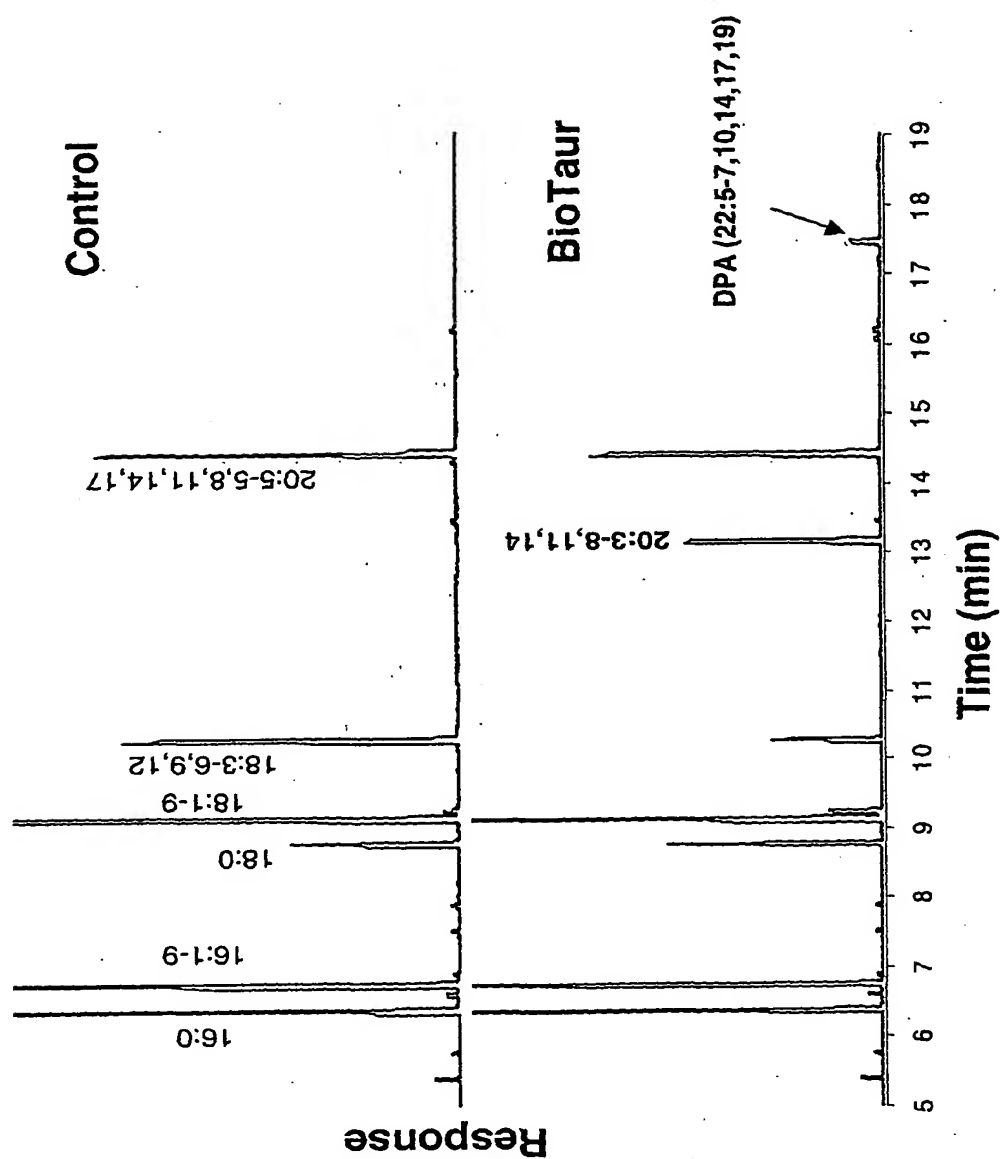


Figur 4: Rekonstitution der DHA-Biosynthese in Hefe ausgehend von 18:4 $\omega$ 3.

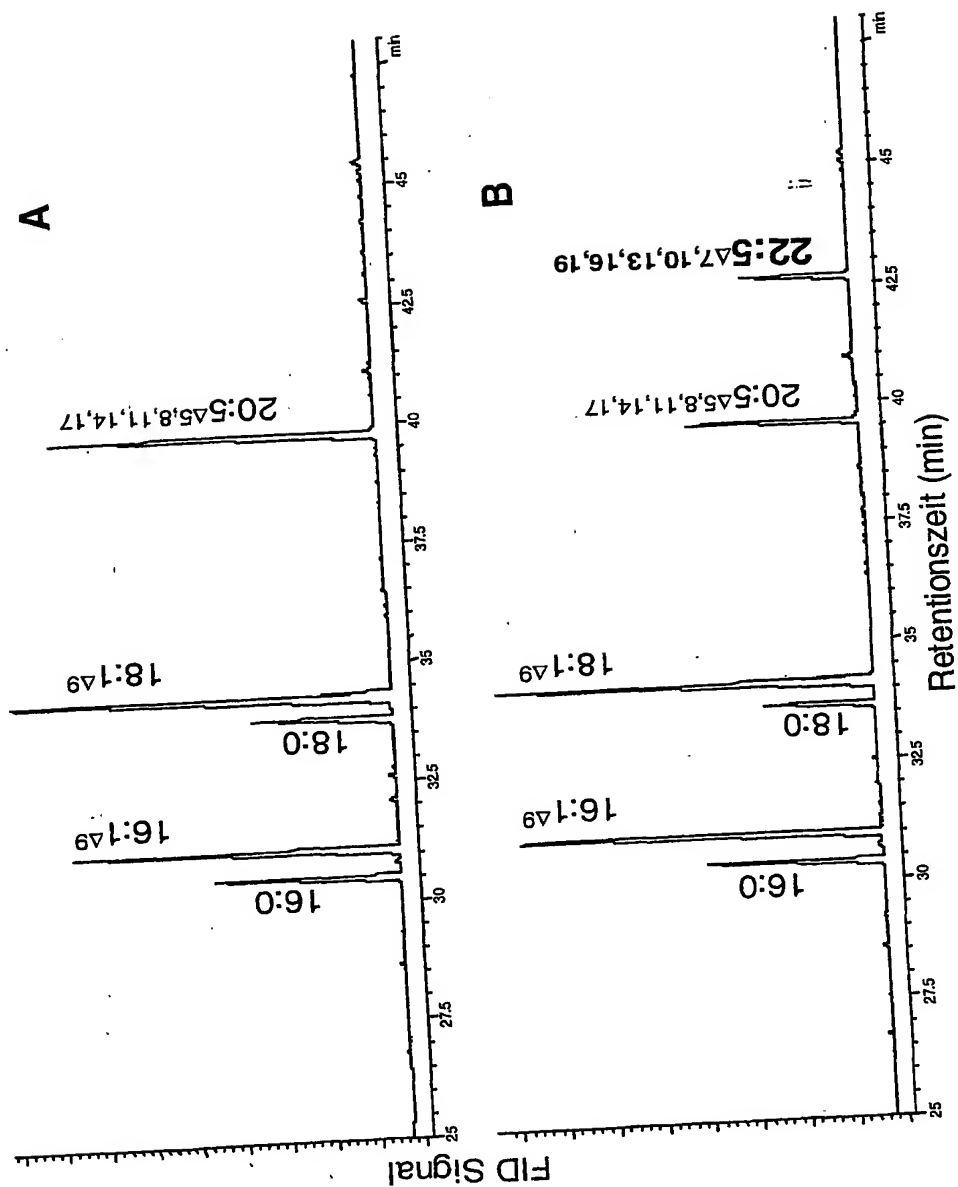
Figur 5: Fettsäure-Zusammensetzung (in Mol %) transgener Hefen, die mit den Vektoren pYes3-OmELO3/pYes2-EgD4 oder pYes3-OmELO3/pYes2-EgD4+pESCLEu-PtD5 transformiert worden waren. Die Hefezellen wurden in Minimalmedium ohne Tryptophan und Uracil / und Leucin in Gegenwart von 250  $\mu$ M 20:5 $^{\Delta 5,8,11,14,17}$  bzw. 18:4 $^{\Delta 6,9,12,15}$  kultiviert. Die Fettsäuremethylester wurden durch saure Methanolyse aus Zellsedimenten gewonnen und über GLC analysiert. Jeder Wert gibt den Mittelwert (n=4)  $\pm$  Standardabweichung wieder.

Fettsäuren	pYes3-OmELO/pYes2-EgD4	pYes3-OmELO/pYes2-EgD4 EgD4 + pESCLEu-PtD5
	Fütterung mit 20:5 $^{\Delta 5,8,11,14,17}$	Fütterung mit 18:4 $^{\Delta 6,9,12,15}$
16:0	9,35 $\pm$ 1,61	7,35 $\pm$ 1,37
16:1 $^{\Delta 9}$	14,70 $\pm$ 2,72	10,02 $\pm$ 1,81
18:0	5,11 $\pm$ 1,09	4,27 $\pm$ 1,21
18:1 $^{\Delta 9}$	19,49 $\pm$ 3,01	10,81 $\pm$ 1,95
18:1 $^{\Delta 11}$	18,93 $\pm$ 2,71	11,61 $\pm$ 1,48
18:4 $^{\Delta 6,9,12,15}$	-	7,79 $\pm$ 1,29
20:1 $^{\Delta 11}$	3,24 $\pm$ 0,41	1,56 $\pm$ 0,23
20:1 $^{\Delta 13}$	11,13 $\pm$ 2,07	4,40 $\pm$ 0,78
20:4 $^{\Delta 8,11,14,17}$	-	30,05 $\pm$ 3,16
20:5 $^{\Delta 5,8,11,14,17}$	6,91 $\pm$ 1,10	3,72 $\pm$ 0,59
22:4 $^{\Delta 10,13,16,17}$	-	5,71 $\pm$ 1,30
22:5 $^{\Delta 7,10,13,16,19}$	8,77 $\pm$ 1,32	1,10 $\pm$ 0,27
22:6 $^{\Delta 4,7,10,13,16,19}$	2,73 $\pm$ 0,39	0,58 $\pm$ 0,10

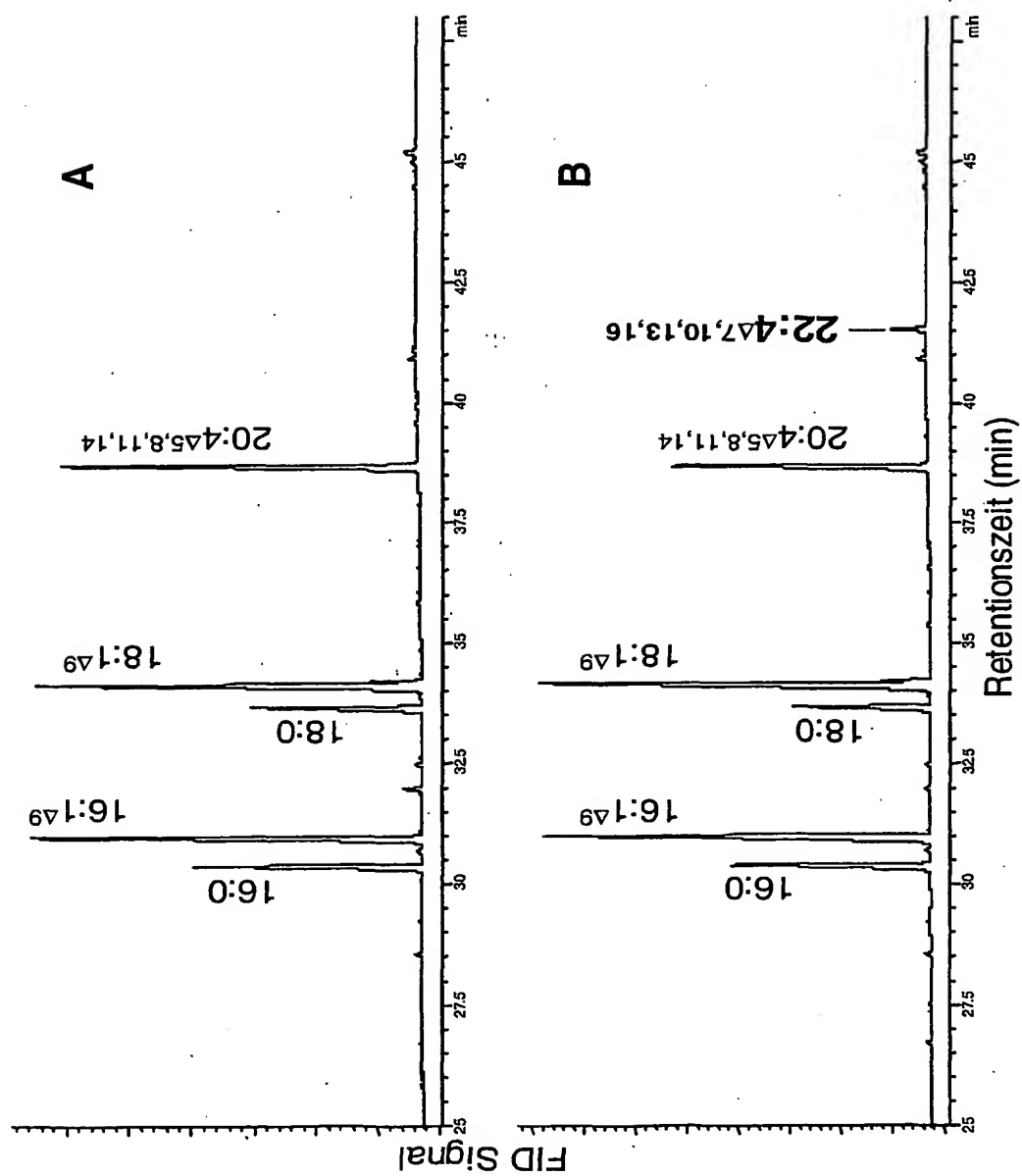
Figur 6: Fütterungsexperiment zur Bestimmung der Funktionalität und Substratspezifität mit Hefestämmen



Figur 7: Elongation von Eicosapentaensäure durch OtElo1

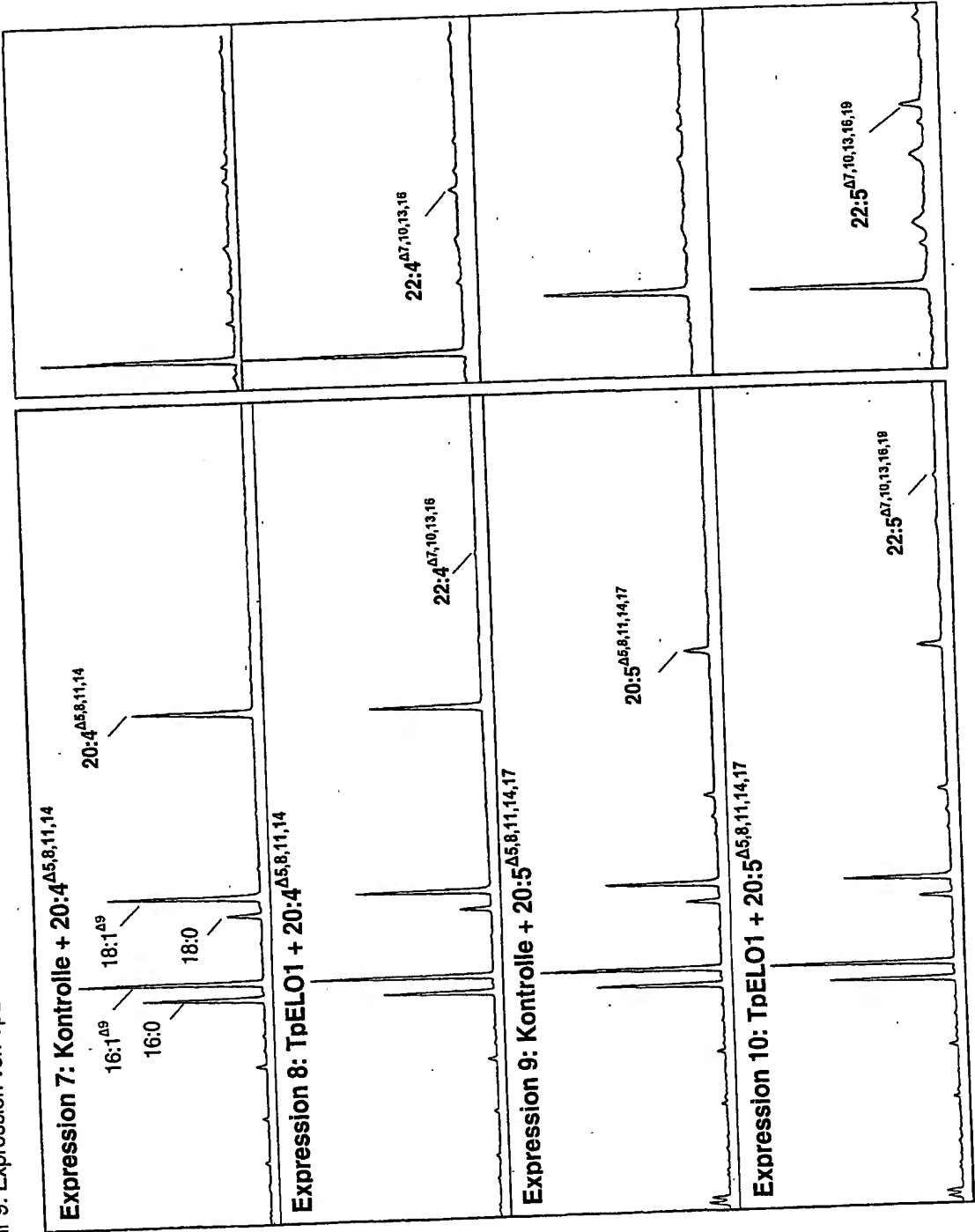




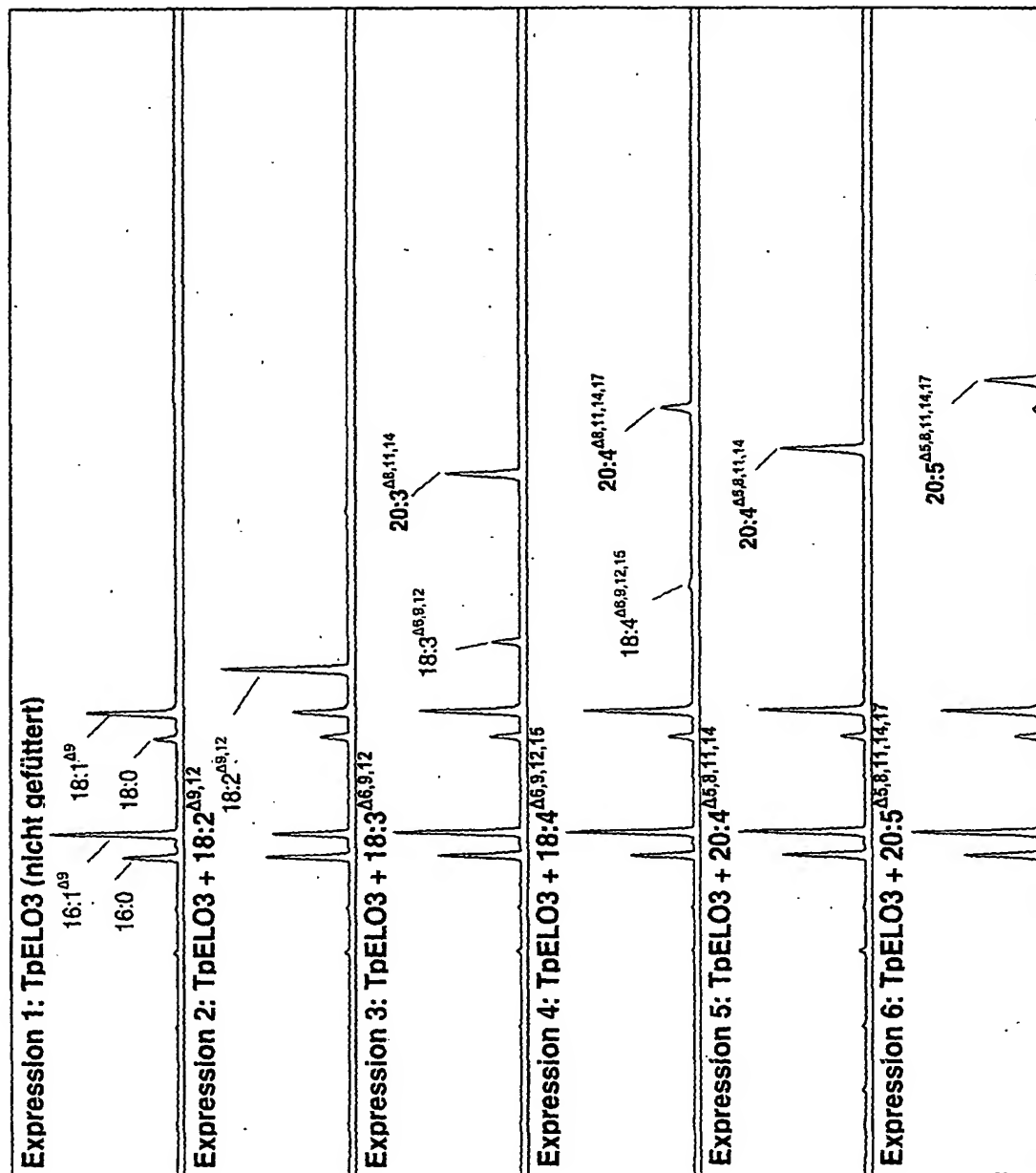


Figur 8: Elongation von Arachidonsäure durch O/Elo1

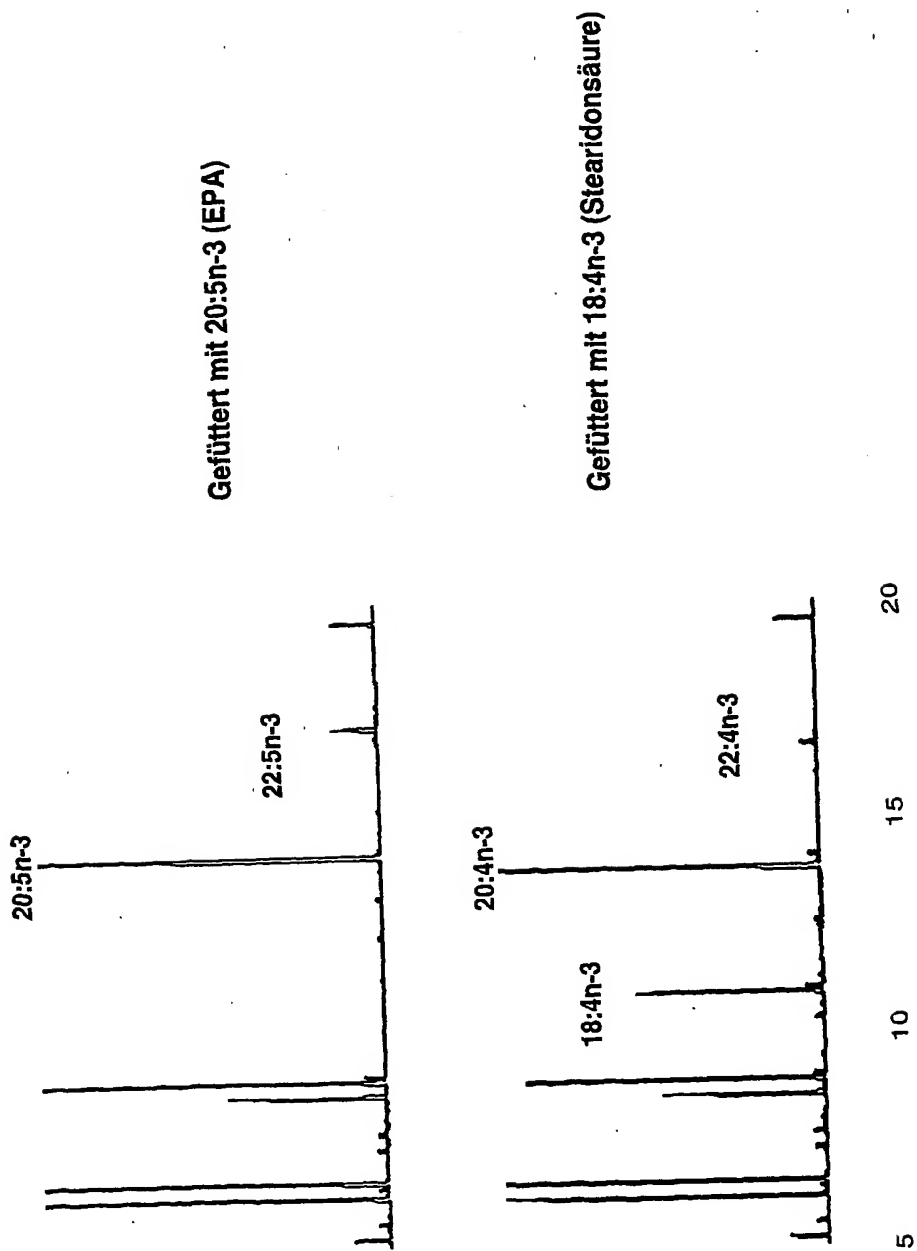
Figur 9: Expression von TpELO1 in Hefe



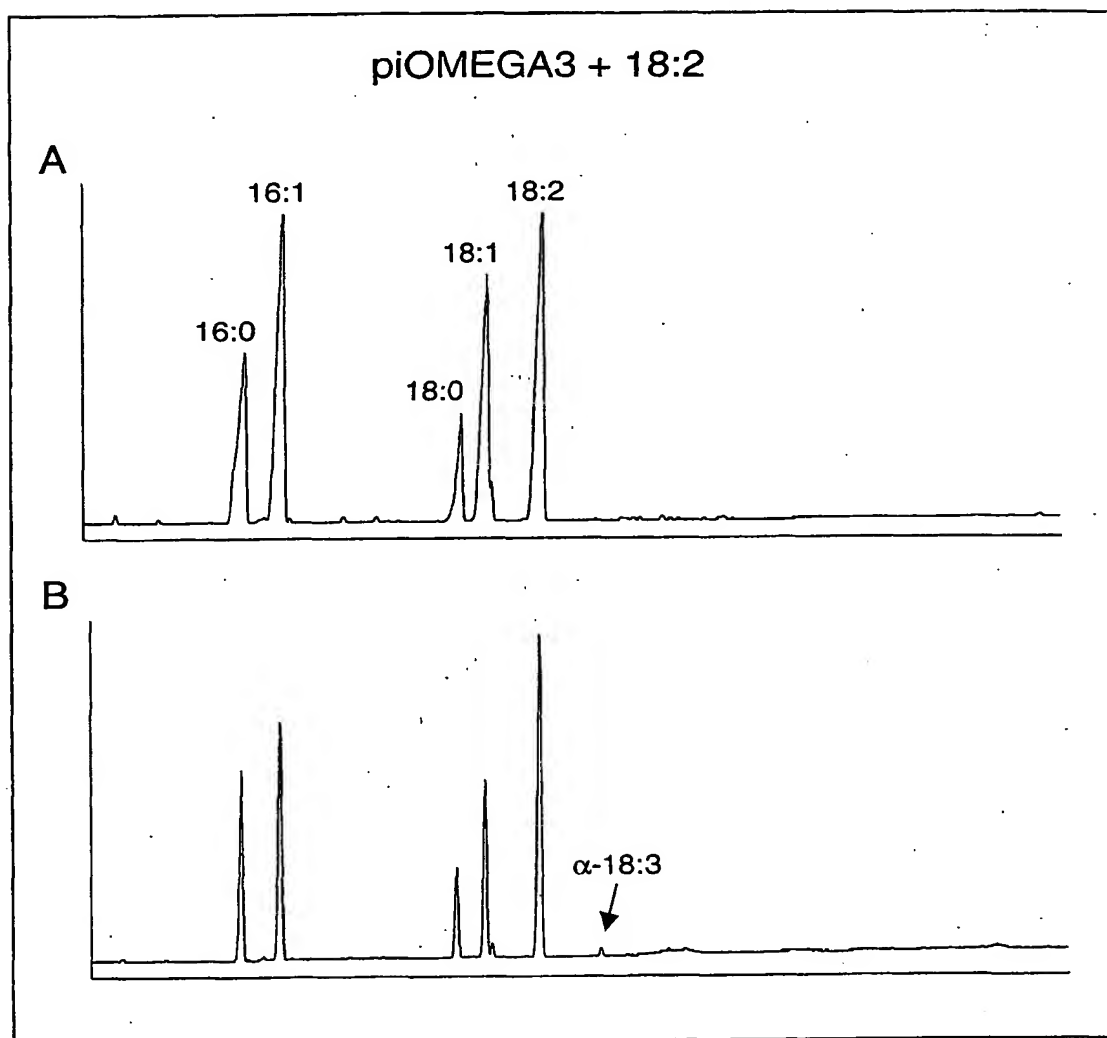
Figur 10: Expression von TpELO3 in Hefe.



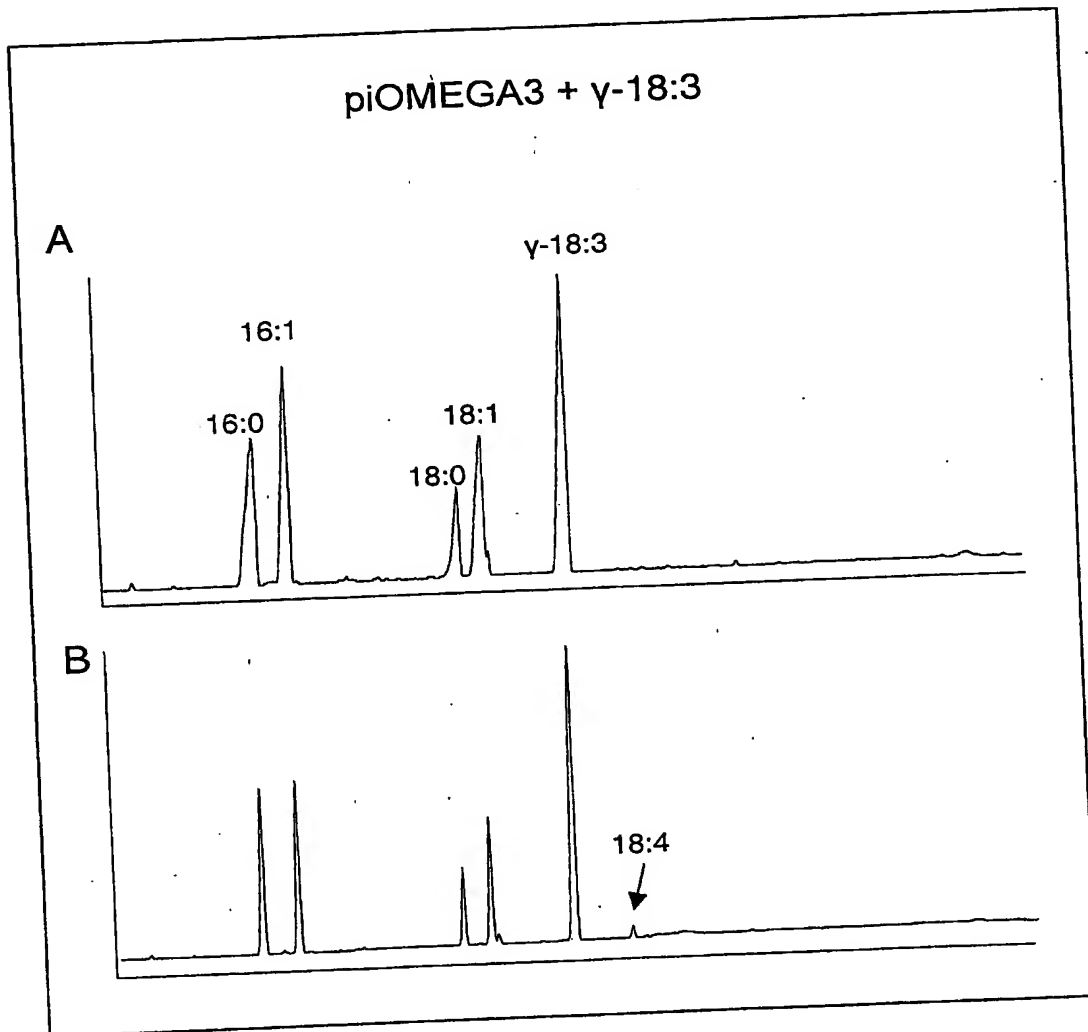
Figur 11: Expression von Thraustochytrium  $\Delta 5$ -Elongase TL16/pYES2.1 in Hefe.



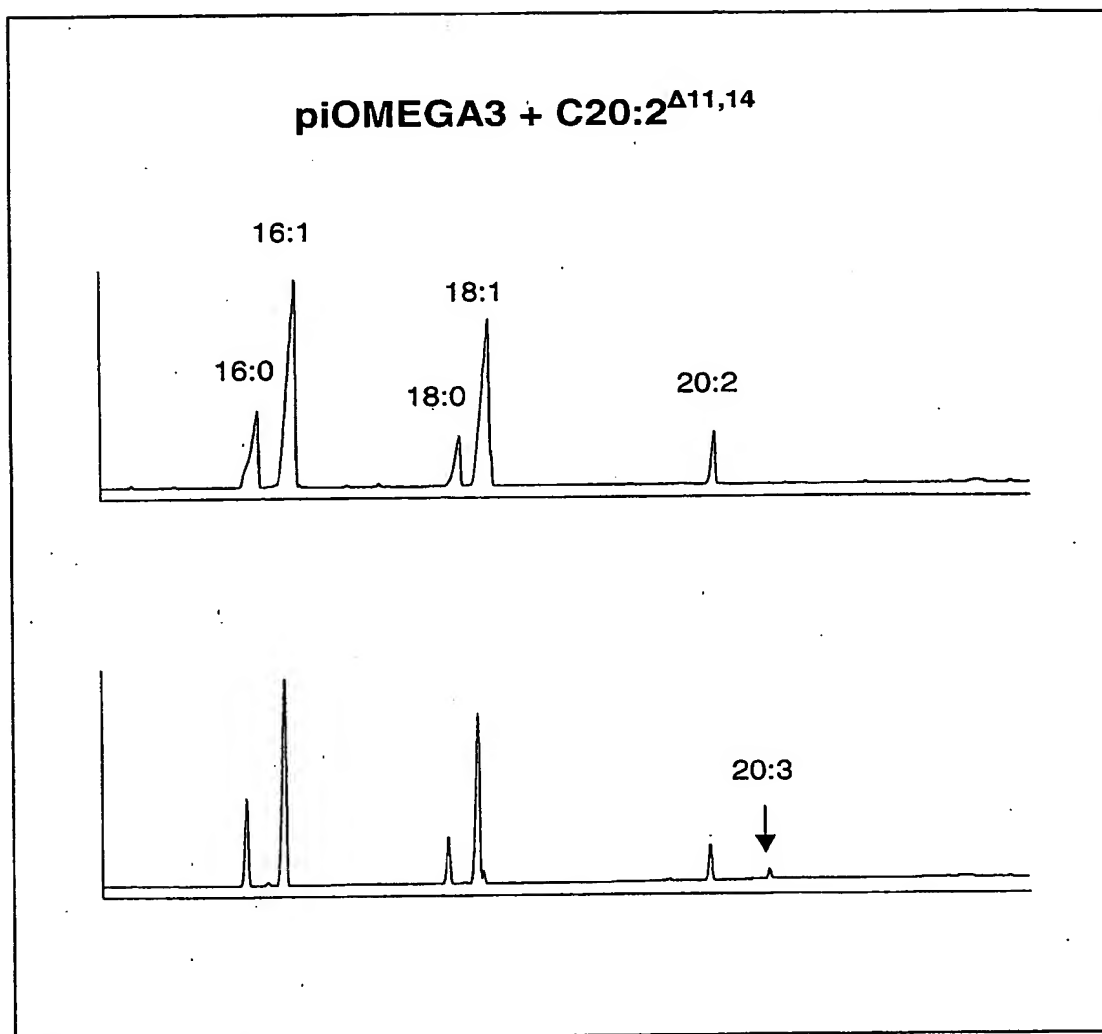
Figur 12: Desaturierung von Linolsäure (18:2  $\omega$ -6-Fettsäure) zu  $\alpha$ -Linolensäure (18:3  $\omega$ -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.



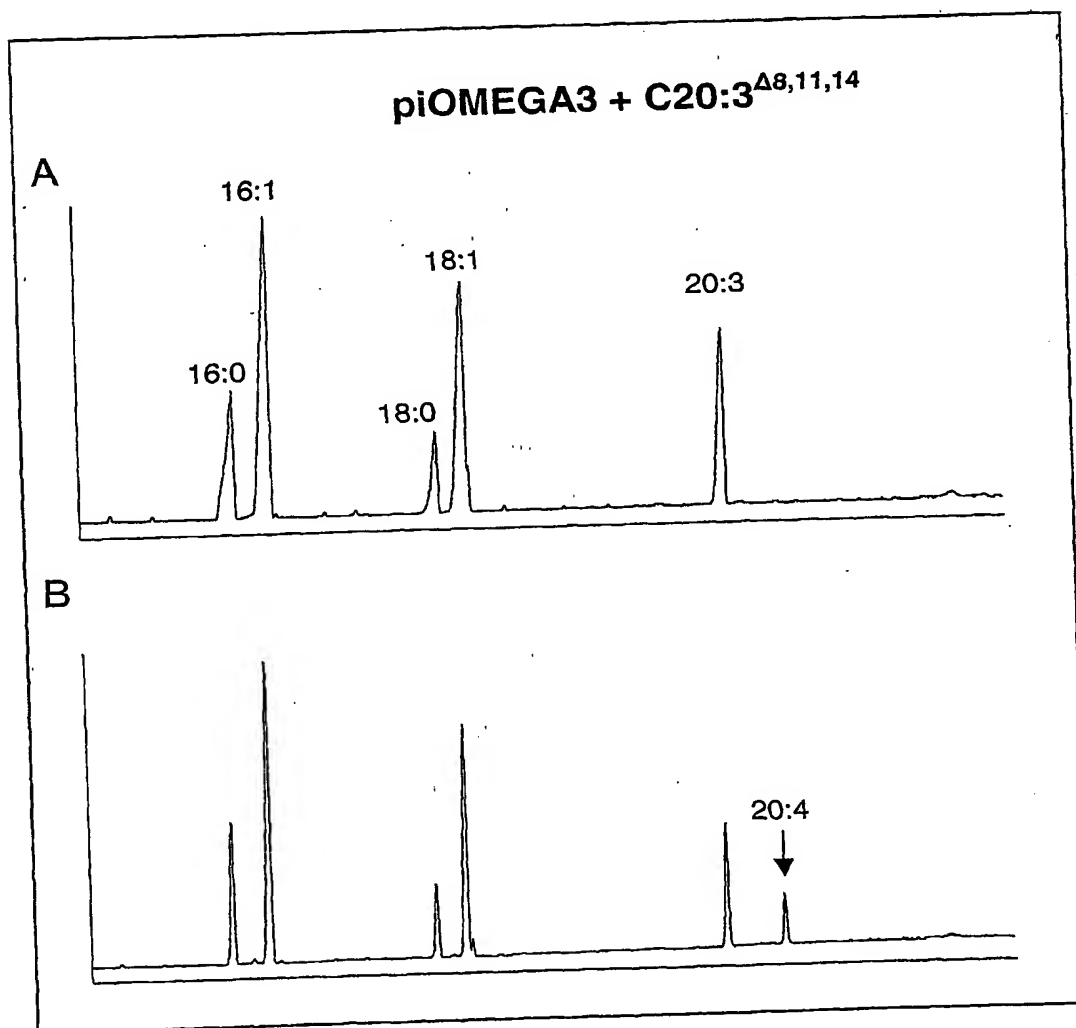
Figur 13: Desaturierung von  $\gamma$ -Linolensäure (18:3  $\omega$ -6-Fettsäure) zu Stearidonsäure (18:4  $\omega$ -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.



Figur 14: Desaturierung von C20:2  $\omega$ -6-Fettsäure zu C20:3  $\omega$ -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des.

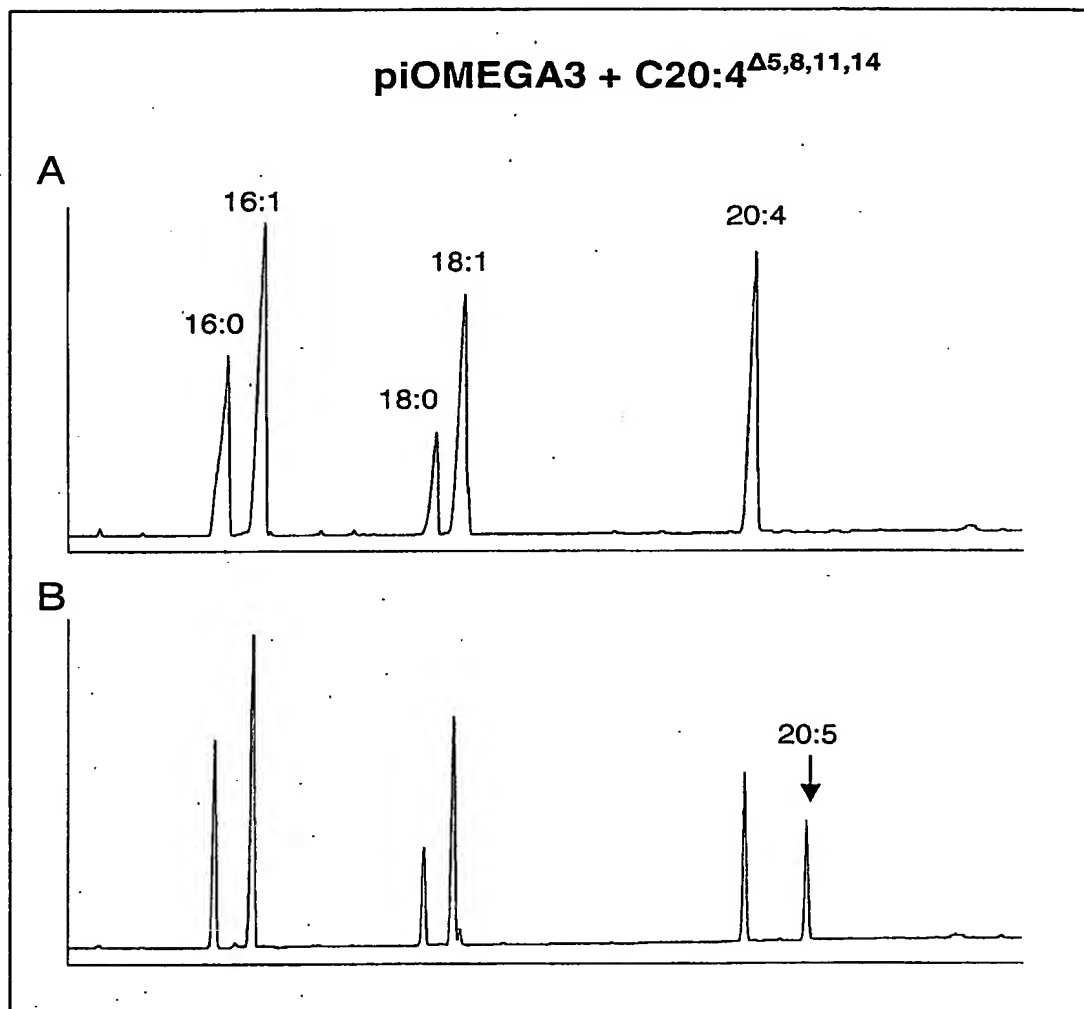


Figur 15: Desaturierung von C20:3- $\omega$ -6-Fettsäure zu C20:4- $\omega$ -3-Fettsäure durch Pi-omega3Des.

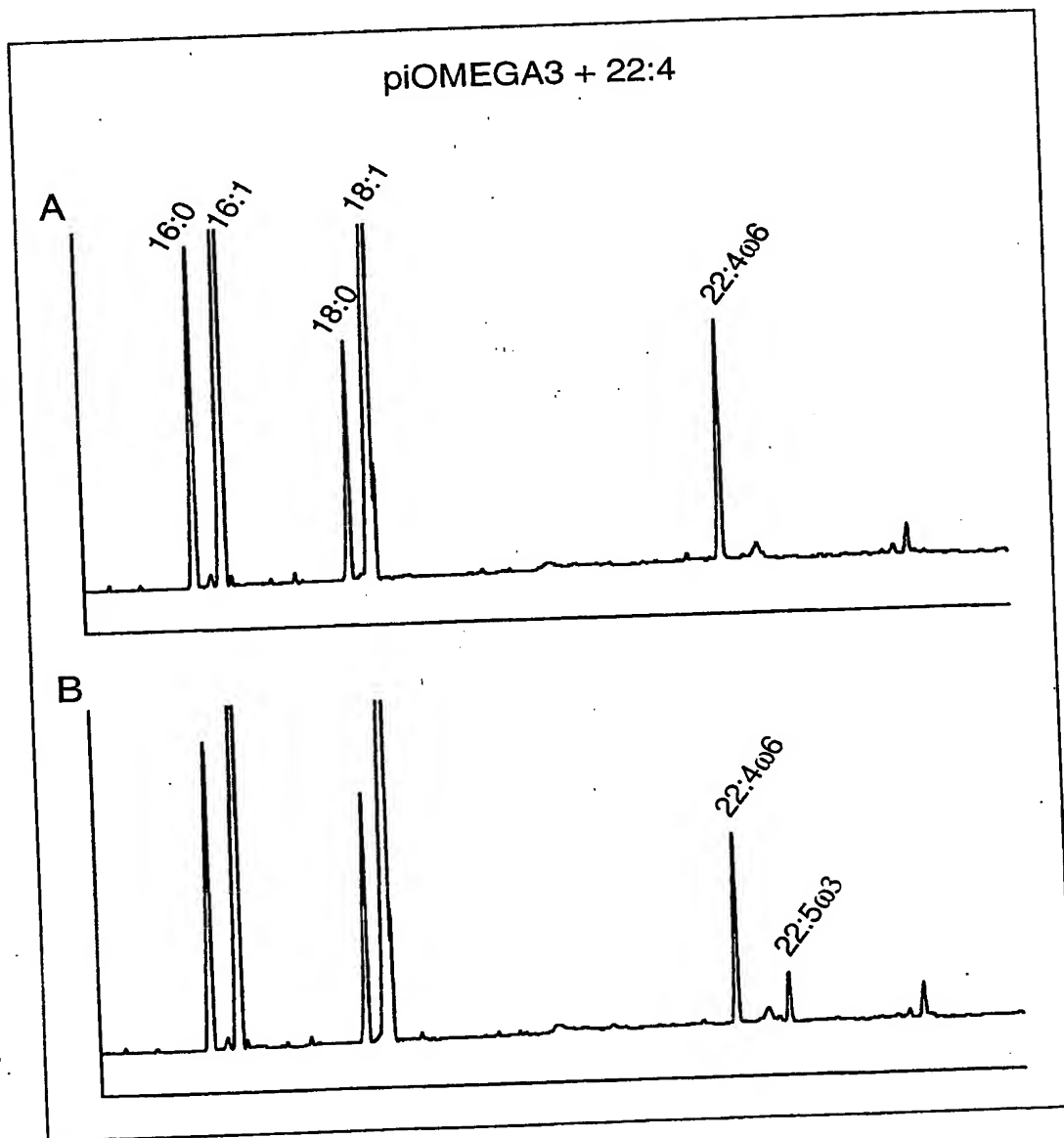




Figur 16: Desaturierung von Arachidonsäure (C20:4- $\omega$ -6-Fettsäure) zu Eicosapentaensäure (C20:5- $\omega$ -3-Fettsäure) durch die Pi-omega3Des.

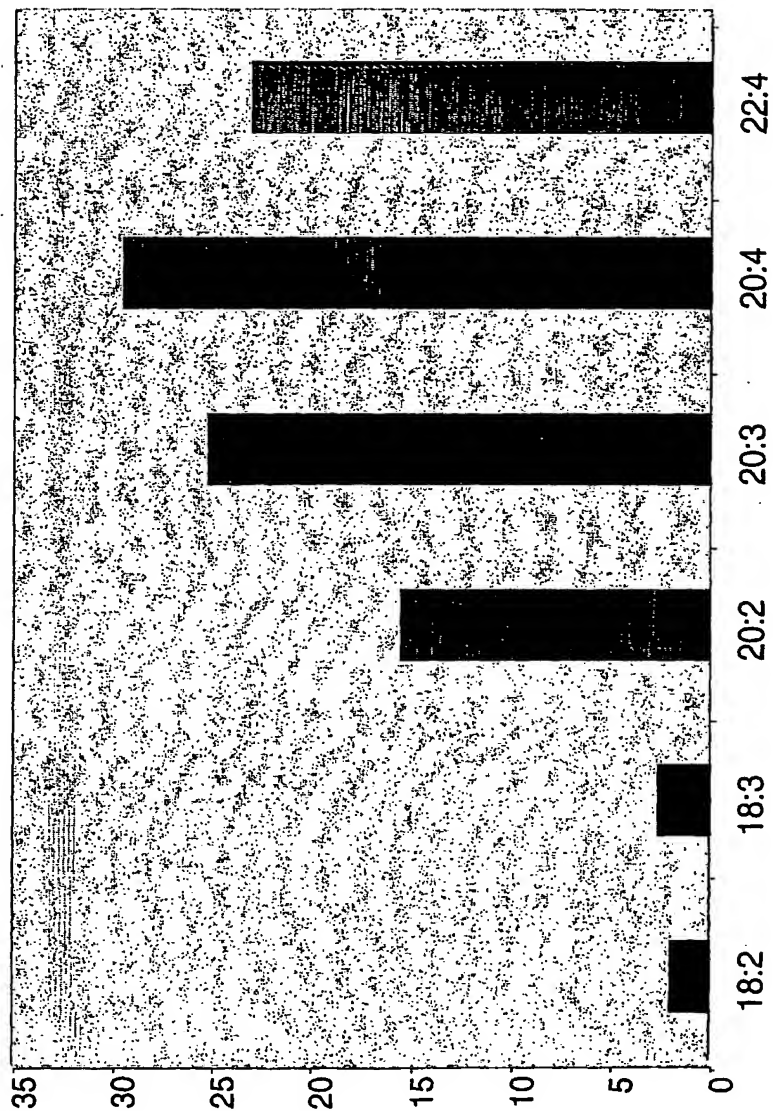


Figur 17: Desaturierung von Docosatetraensäure (C22:4- $\omega$ -6-Fettsäure) zu Docosapentaensäure (C22:5- $\omega$ -3-Fettsäure) durch Pi-omega3Des.

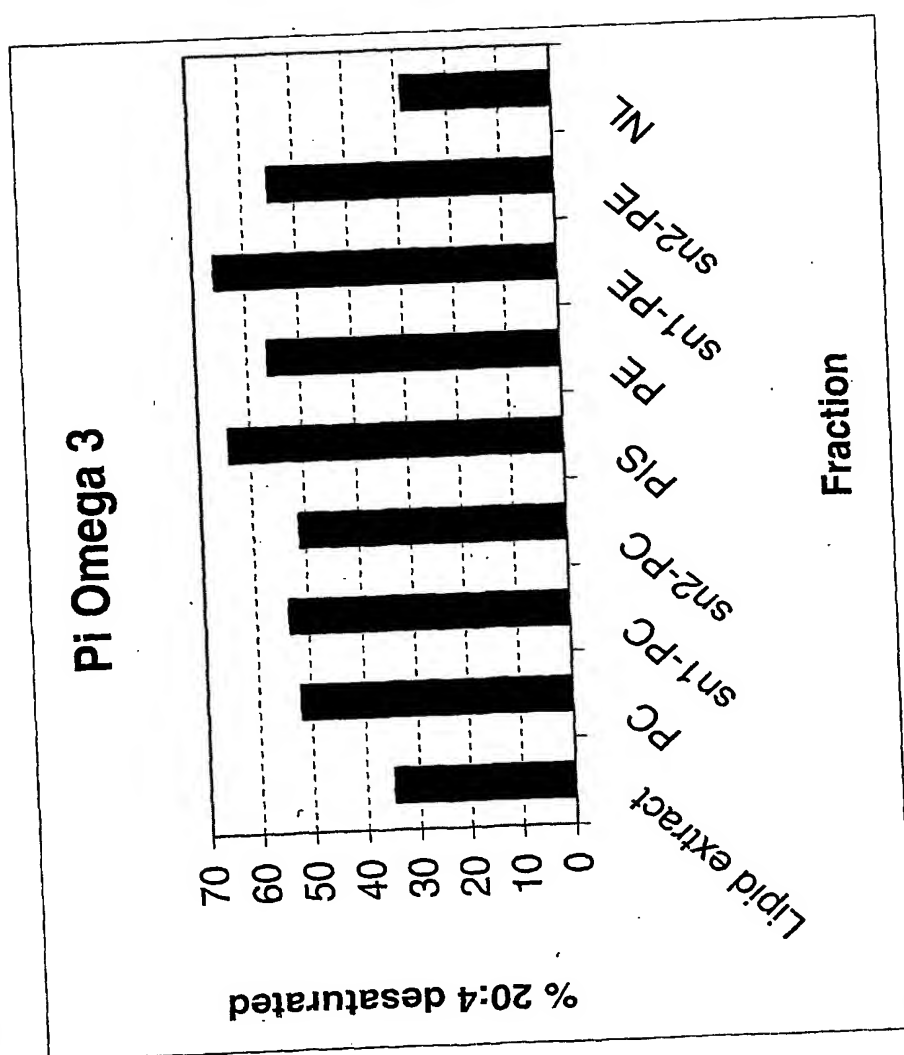


Figur 18: Substratspezifität der Pi-omega3Des gegenüber verschiedenen Fettsäuren

% Desaturierung

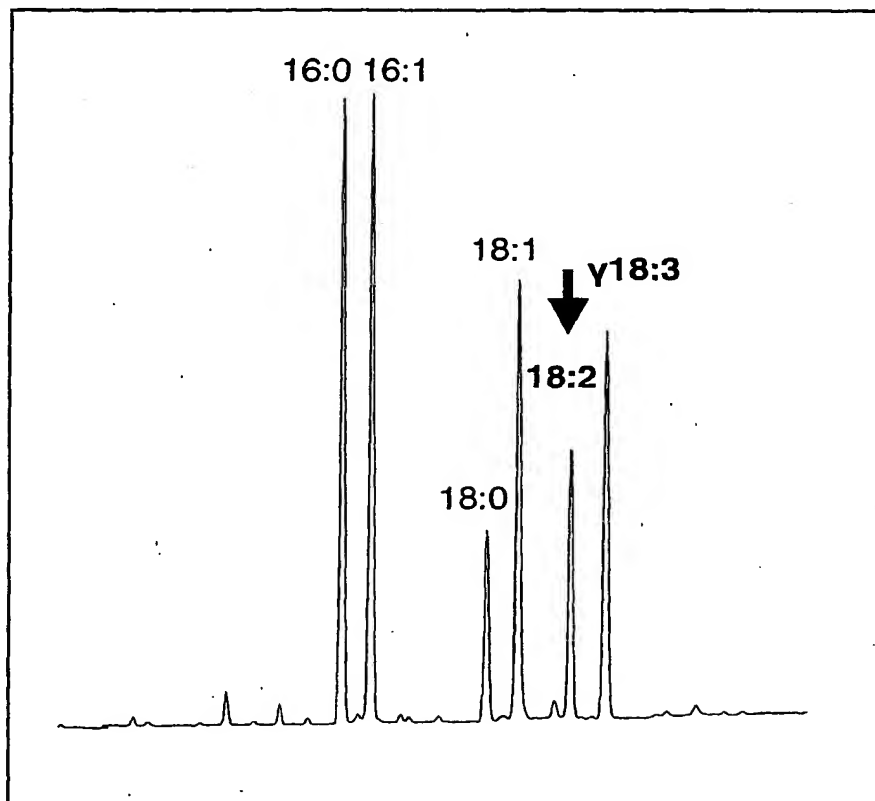


Figur 19: Desaturierung von Phospholipid gebundener Arachidonsäure zu EPA durch die Pi-Omega3Des



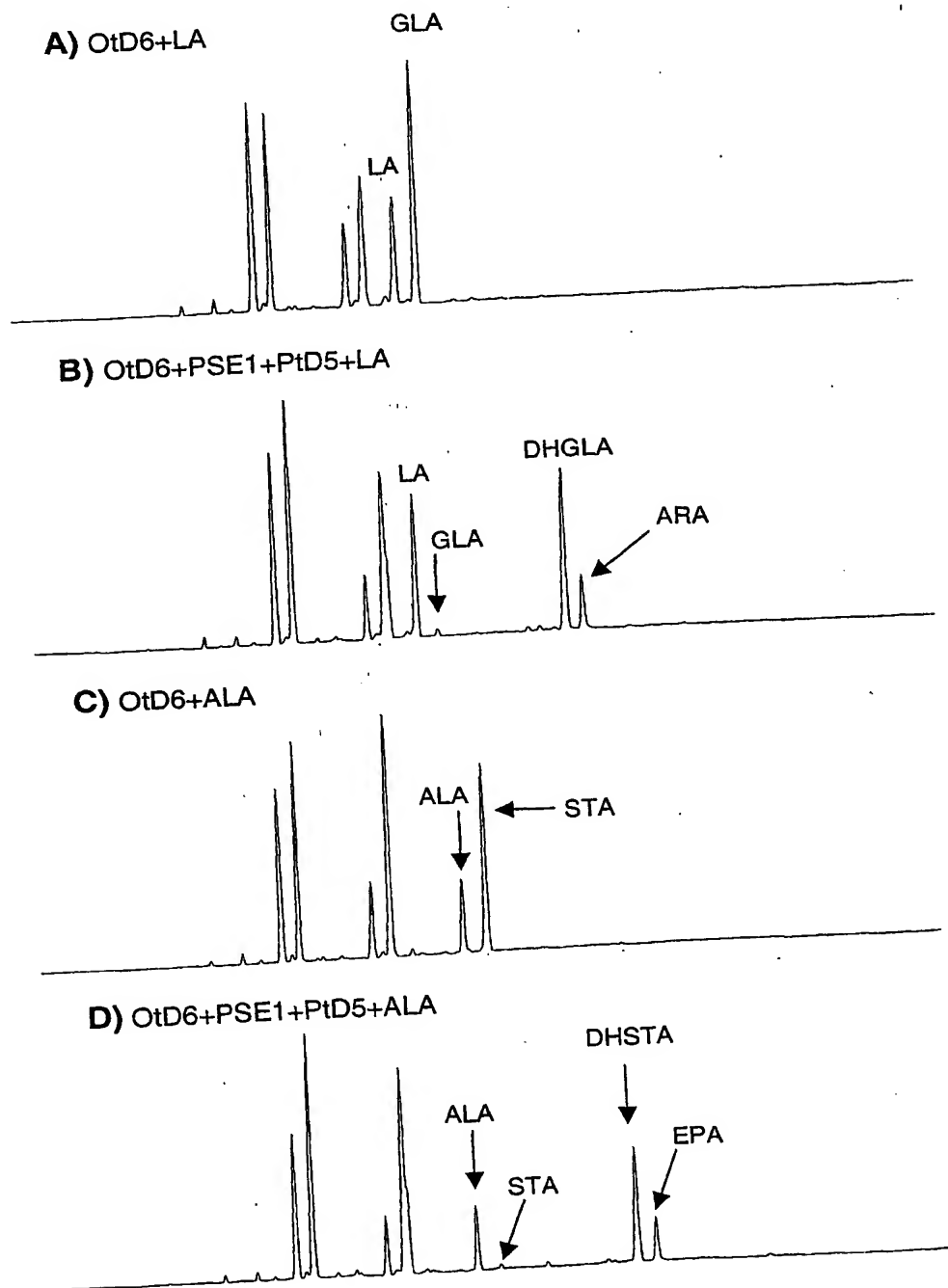
Figur 20: Umsetzung von Linolsäure (Pfeil) zu  $\gamma$ -Linolensäure ( $\gamma$ -18:3) durch Ot-Des6.1.

Absorption mAU



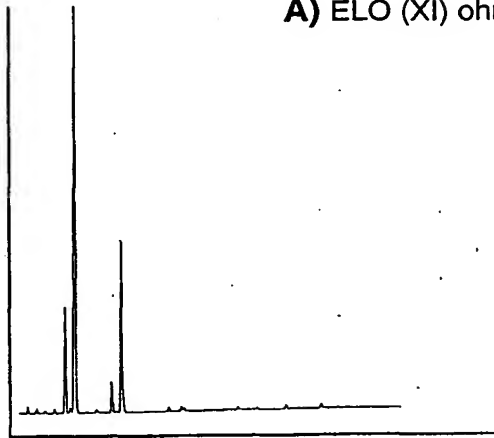
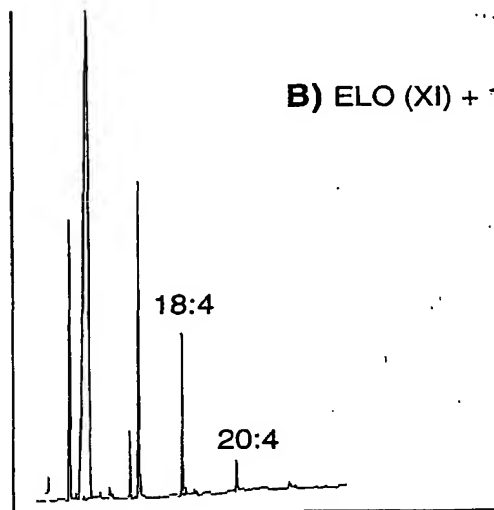
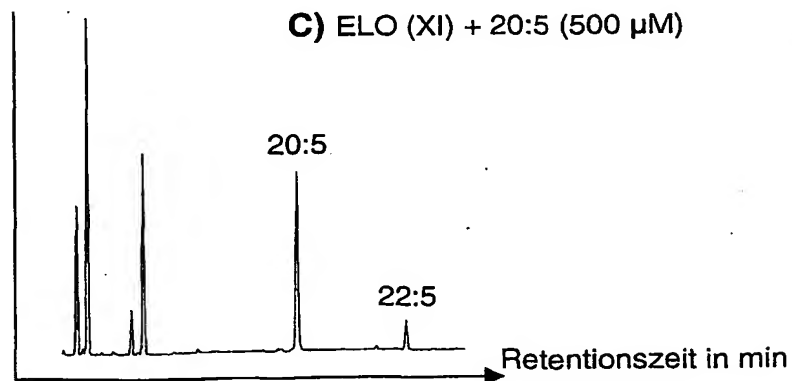
Retentionszeit

Figur 21: Umsetzung von Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure (A und C), sowie Rekonstitution des ARA- bzw. EPA-Syntheseweges in Hefe (B und D) in Gegenwart von OtD6.1.

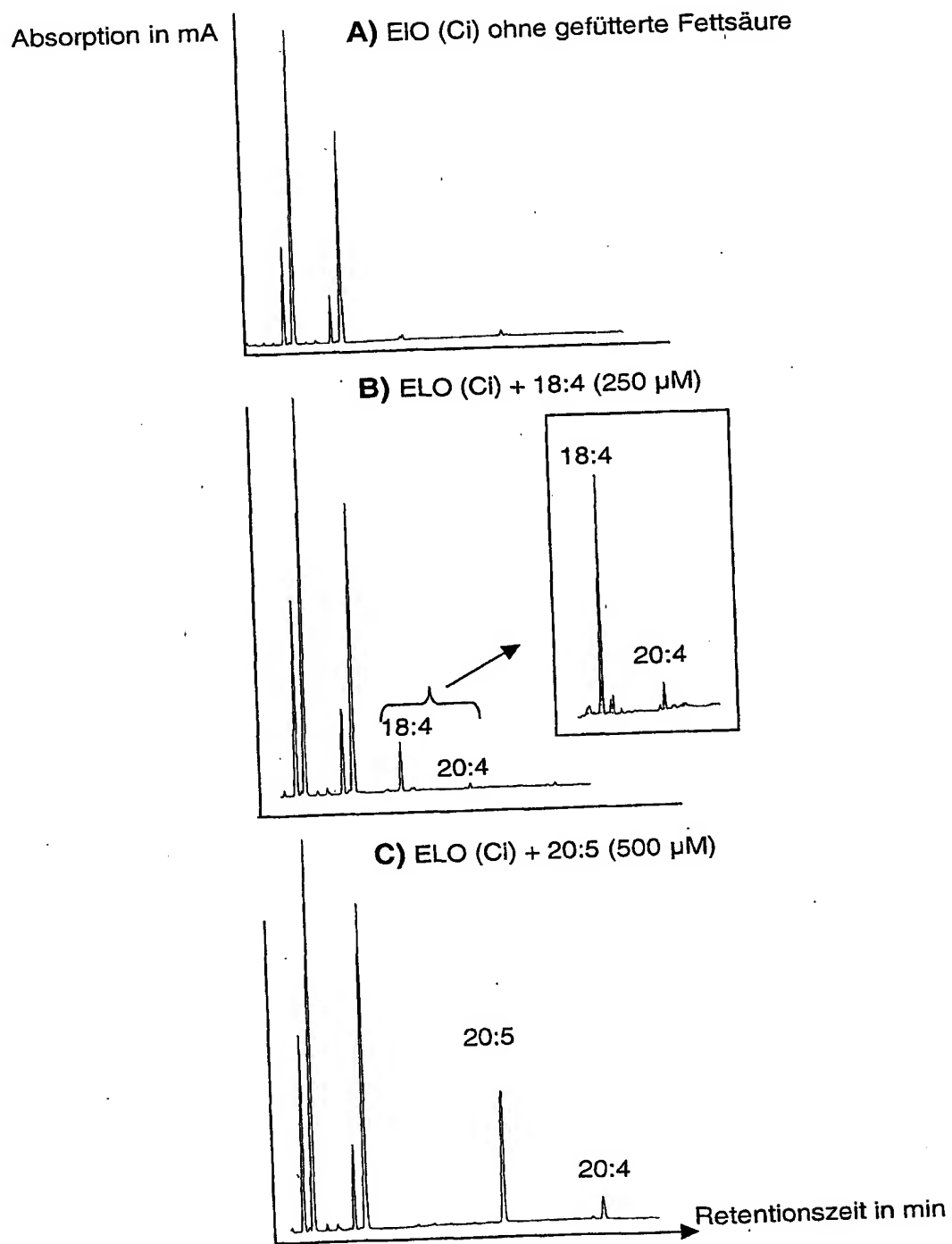


Figur 22: Expression von ELO(XI) in Hefe.

Absorption in mA

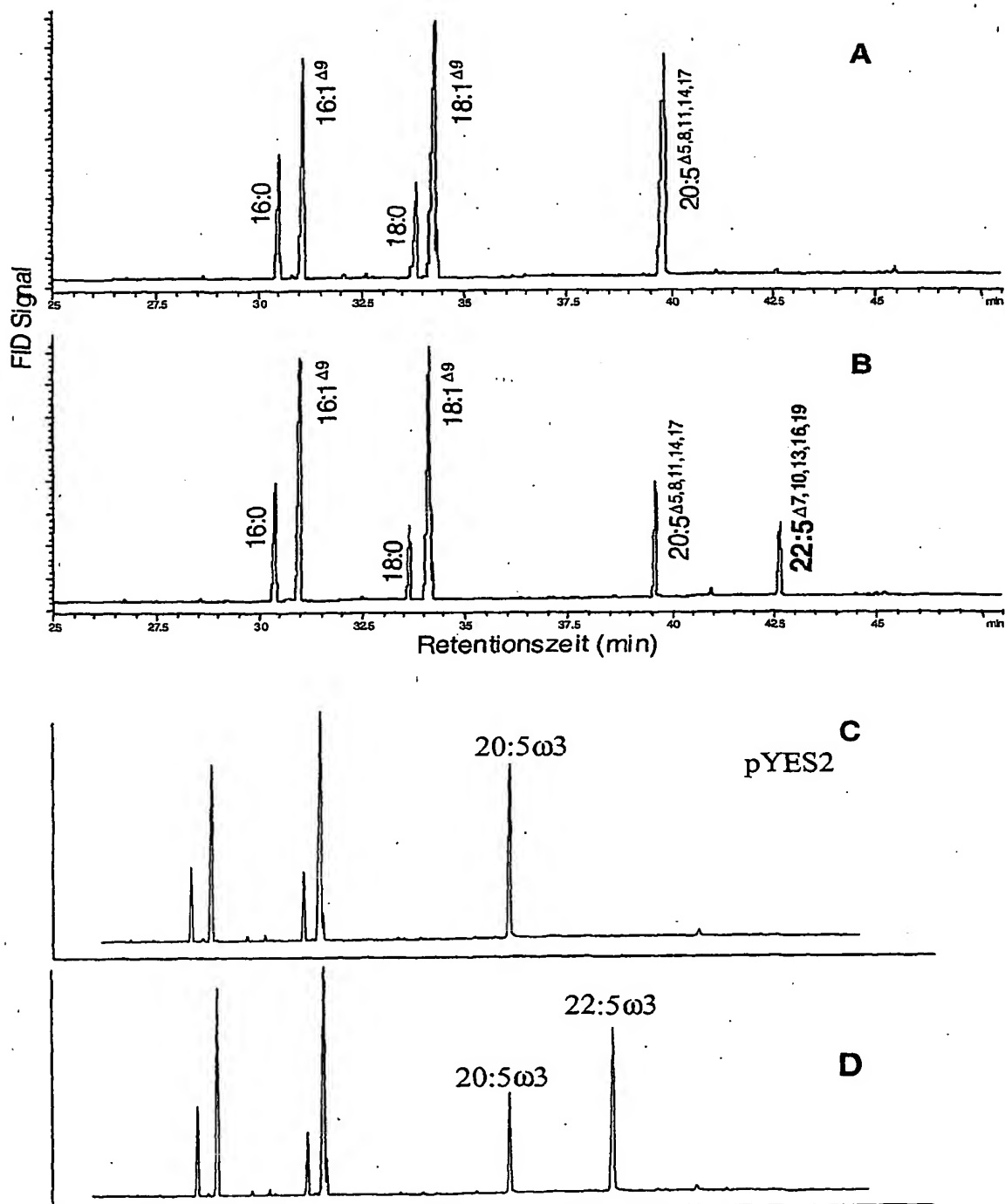
**A)** ELO (XI) ohne gefütterte Fettsäure**B)** ELO (XI) + 18:4 $\Delta$ 6,9,12,15 (250  $\mu$ M)**C)** ELO (XI) + 20:5 (500  $\mu$ M)

Figur 23:

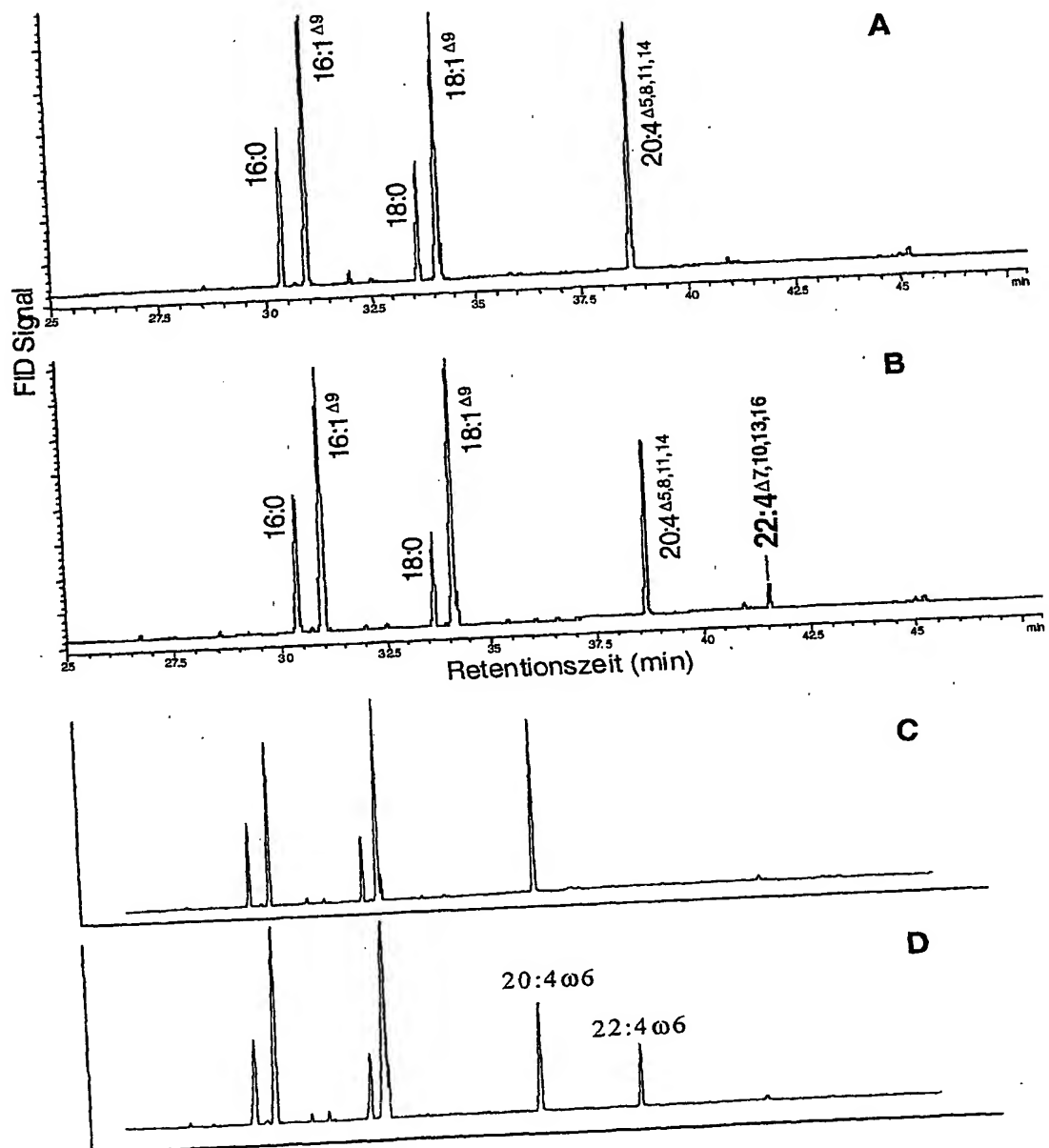




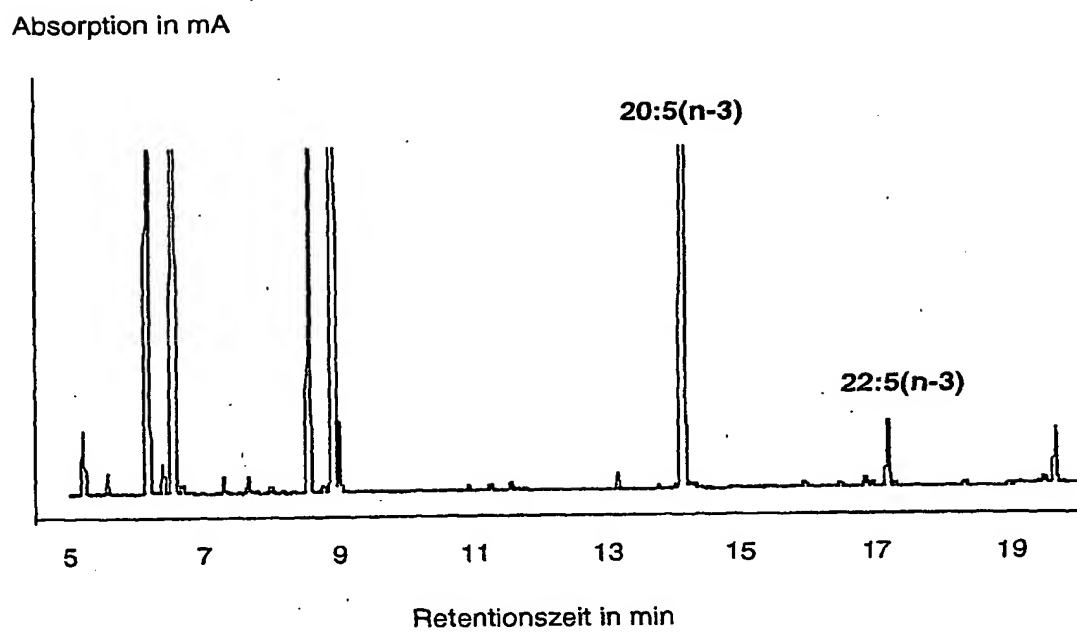
Figur 24: Elongation von Eicosapentaensäure durch OtElo1 (B) bzw. OtElo1.2 (D).  
Die Kontrollen (A, C) zeigen nicht das Produkt der Elongation (22:5 $\omega$ 3).



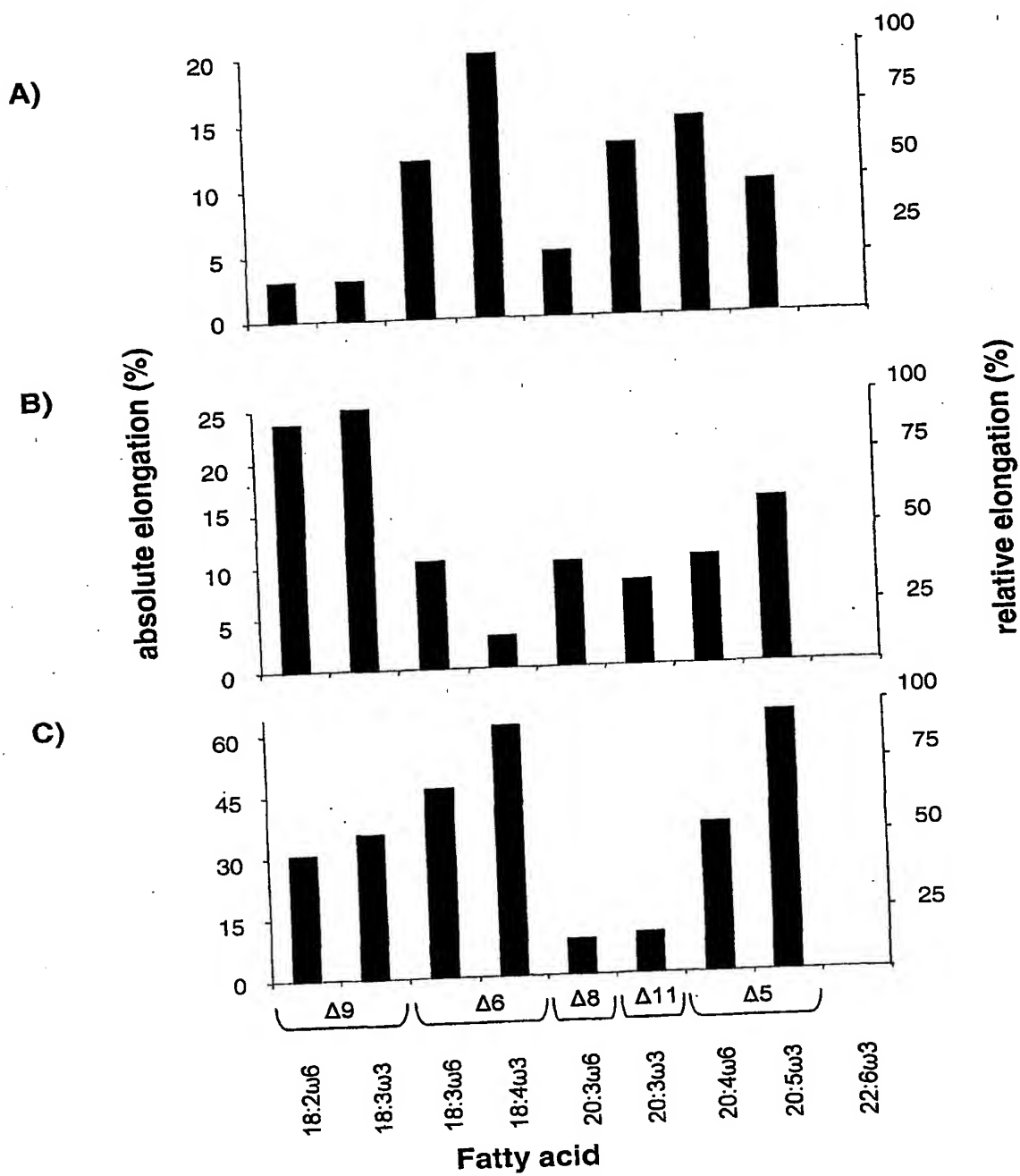
Figur 25: Elongation von Arachidonsäure durch OtElo1 (B) bzw. OtElo1.2 (D). Die Kontrollen (A, C) zeigen nicht das Produkt der Elongation (22:4 $\omega$ 6).



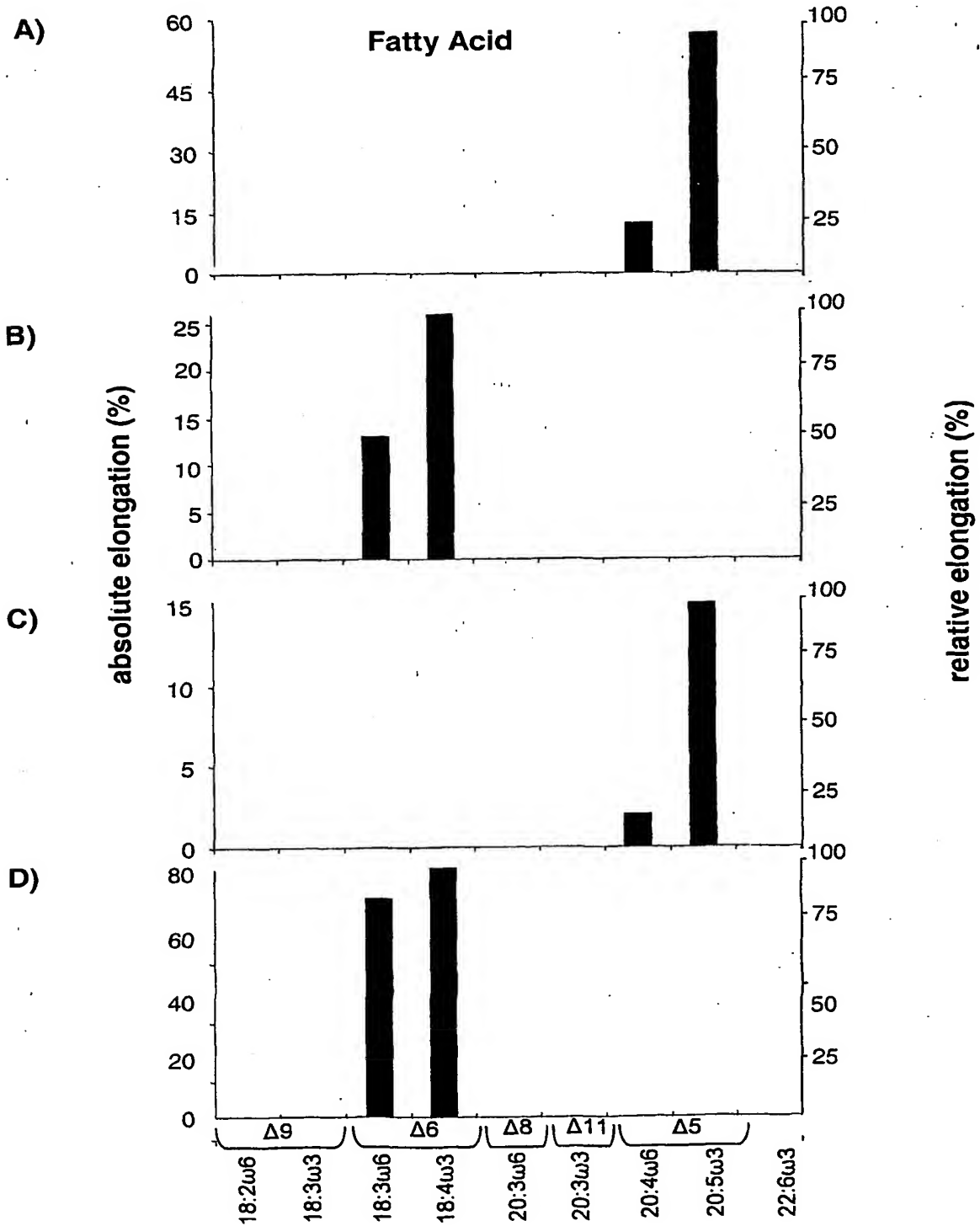
Figur 26: Elongation von 20:5n-3 durch die Elongasen At3g06470.



Figur 27: Substratspezifität der *Xenopus* Elongase (A), *Ciona* Elongase (B) und *Onchornynchus* Elongase (C)

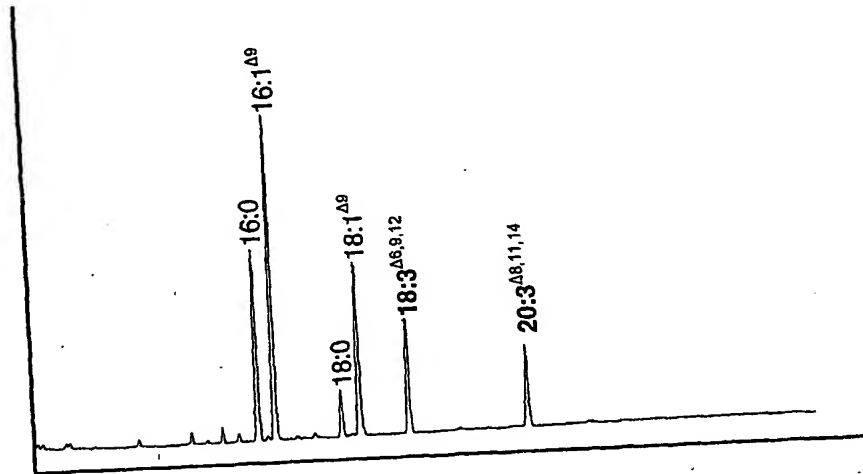


Figur 28: Substratspezifität der *Ostreococcus*  $\Delta$ -5-Elongase (A), der *Ostreococcus*  $\Delta$ -6-Elongase (B), der *Thalassiosira*  $\Delta$ -5-Elongase (C) und *Thalassiosira*  $\Delta$ -6-Elongase (D)

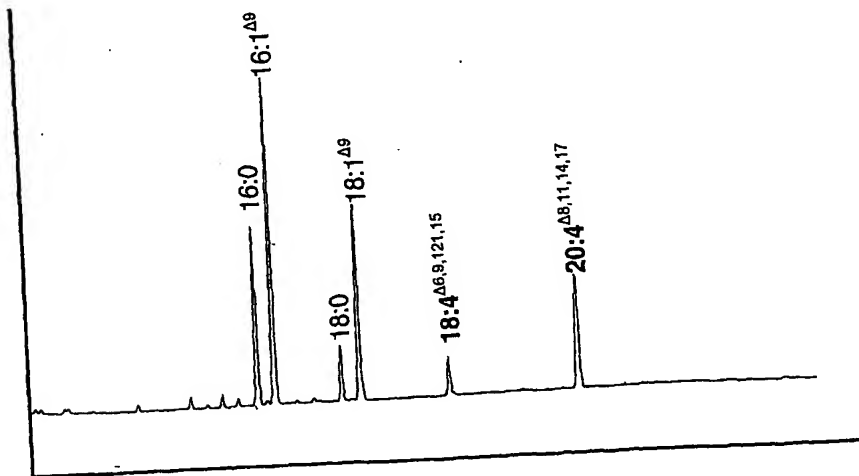


Figur 29: Expression der *Phaeodactylum tricornutum*  $\Delta$ -6-Elongase (PtELO6) in Hefe. A) zeigt die Elongation der C18:3 $^{\Delta 6,9,12}$  Fettsäure und B) die Elongation der C18:4 $^{\Delta 6,9,12,15}$  Fettsäure

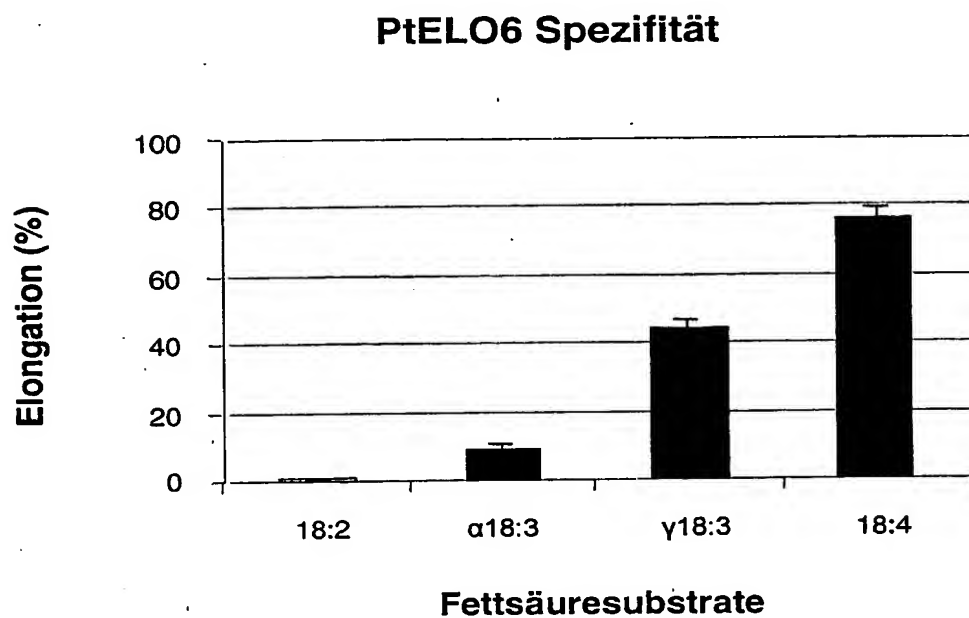
A)



B)



Figur 30: Figur 30 zeigt die Substratspezifität von PtELO6 in Bezug auf die gefütterten Substrate.



## SEQUENCE LISTING

<110> BASF Plant Science GmbH

<120> Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in transgenen Organismen

<130> PF54756

<140> 20030601

<141> 2003-08-01

<160> 192

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1266

<212> DNA

<213> *Euglena gracilis*

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1266)

<223> Delta-8-Desaturase

<400> 1

atg aag tca aag cgc caa gcg ctt ccc ctt aca att gat gga aca aca	48
Met Lys Ser Lys Arg Gln Ala Leu Pro Leu Thr Ile Asp Gly Thr Thr	
1 5 10 15	
tat gat gtg tct gcc tgg gtc aat ttc cac cct ggt ggt gcg gaa att	96
Tyr Asp Val Ser Ala Trp Val Asn Phe His Pro Gly Gly Ala Glu Ile	
20 25 30	
ata gag aat tac caa gga agg gat gcc act gat gcc ttc atg gtt atg	144
Ile Glu Asn Tyr Gln Gly Arg Asp Ala Thr Asp Ala Phe Met Val Met	
35 40 45	
cac tct caa gaa gcc ttc gac aag ctc aag cgc atg ccc aaa atc aat	192
His Ser Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Lys Arg Met Pro Lys Ile Asn	
50 55 60	
ccc agt tct gag ttg cca ccc cag gct gca gtg aat gaa gct caa gag	240
Pro Ser Ser Glu Leu Pro Pro Gln Ala Ala Val Asn Glu Ala Gln Glu	
65 70 75 80	
gat ttc cgg aag ctc cga gaa gag ttg atc gca act ggc atg ttt gat	288
Asp Phe Arg Lys Leu Arg Glu Glu Leu Ile Ala Thr Gly Met Phe Asp	
85 90 95	
gcc tcc ccc ctc tgg tac tca tac aaa atc agc acc aca ctg ggc ctt	336
Ala Ser Pro Leu Trp Tyr Ser Tyr Lys Ile Ser Thr Thr Leu Gly Leu	
100 105 110	
gga gtg ctg ggt tat ttc ctg atg gtt cag tat cag atg tat ttc att	384
Gly Val Leu Gly Tyr Phe Leu Met Val Gln Tyr Gln Met Tyr Phe Ile	
115 120 125	
ggg gca gtg ttg ctt ggg atg cac tat caa cag atg ggc tgg ctt tct	432
Gly Ala Val Leu Leu Gly Met His Tyr Gln Gln Met Gly Trp Leu Ser	
130 135 140	
cat gac att tgc cac cac cag act ttc aag aac cgg aac tgg aac aac	480
His Asp Ile Cys His His Gln Thr Phe Lys Asn Arg Asn Trp Asn Asn	
145 150 155 160	



ctc gtc gga ctg gta ttt ggc aat ggt ctg caa ggt ttt tcc gtg aca Leu Val Gly Leu Val Phe Gly Asn Gly Leu Gln Gly Phe Ser Val Thr 165 170 175	528
tgc tgg aag gac aga cac aat gca cat cat tcg gca acc aat gtt caa Cys Trp Lys Asp Arg His Asn Ala His His Ser Ala Thr Asn Val Gln 180 185 190	576
ggg cac gac cct gat att gac aac ctc ccc ctc tta gcc tgg tct gag Gly His Asp Pro Asp Ile Asp Asn Leu Pro Leu Leu Ala Trp Ser Glu 195 200 205	624
gat gac gtc aca cgg gcg tca ccg att tcc cgc aag ctc att cag ttc Asp Asp Val Thr Arg Ala Ser Pro Ile Ser Arg Lys Leu Ile Gln Phe 210 215 220	672
cag cag tat tat ttc ttg gtc atc tgt atc ttg ttg cgg ttc att tgg Gln Gln Tyr Tyr Phe Leu Val Ile Cys Ile Leu Leu Arg Phe Ile Trp 225 230 235 240	720
tgt ttc cag agc gtg ttg acc gtg cgc agt ctg aag gac aga gat aac Cys Phe Gln Ser Val Leu Thr Val Arg Ser Leu Lys Asp Arg Asp Asn 245 250 255	768
caa ttc tat cgc tct cag tat aag aag gag gcc att ggc ctc gcc ctg Gln Phe Tyr Arg Ser Gln Tyr Lys Lys Glu Ala Ile Gly Leu Ala Leu 260 265 270	816
cat tgg aca ttg aag gcc ctg ttc cac tta ttc ttt atg ccc agc atc His Trp Thr Leu Lys Ala Leu Phe His Leu Phe Phe Met Pro Ser Ile 275 280 285	864
ctc aca tcg ctg ttg gta ttt ttc gtt tcg gag ctg gtt ggc ggc ttc Leu Thr Ser Leu Leu Val Phe Phe Val Ser Glu Leu Val Gly Gly Phe 290 295 300	912
ggc att gcg atc gtg gtg ttc atg aac cac tac cca ctg gag aag atc Gly Ile Ala Ile Val Val Phe Met Asn His Tyr Pro Leu Glu Lys Ile 305 310 315 320	960
ggg gac tcg gtc tgg gat ggc cat gga ttc tcg gtt ggc cag atc cat Gly Asp Ser Val Trp Asp Gly His Gly Phe Ser Val Gly Gln Ile His 325 330 335	1008
gag acc atg aac att cgg cga ggg att atc aca gat tgg ttt ttc gga Glu Thr Met Asn Ile Arg Arg Gly Ile Ile Thr Asp Trp Phe Phe Gly 340 345 350	1056
ggc ttg aac tac cag atc gag cac cat ttg tgg ccg acc ctc cct cgc Gly Leu Asn Tyr Gln Ile Glu His His Leu Trp Pro Thr Leu Pro Arg 355 360 365	1104
cac aac ctg aca gcg gtt agc tac cag gtg gaa cag ctg tgc cag aag His Asn Leu Thr Ala Val Ser Tyr Gln Val Glu Gln Leu Cys Gln Lys 370 375 380	1152
cac aac ctg ccg tat cgg aac ccg ctg ccc cat gaa ggg ttg gtc atc His Asn Leu Pro Tyr Arg Asn Pro Leu Pro His Glu Gly Leu Val Ile 385 390 395 400	1200
ctg ctg cgc tat ctg gcg gtg ttc gcc cgg atg gcg gag aag caa ccc Leu Leu Arg Tyr Leu Ala Val Phe Ala Arg Met Ala Glu Lys Gln Pro 405 410 415	1248
gcg ggg aag gct cta taa Ala Gly Lys Ala Leu 420	1266

WO 2005/012316

3

<210> 2  
 <211> 421  
 <212> PRT  
 <213> *Euglena gracilis*

<400> 2

Met Lys Ser Lys Arg Gln Ala Leu Pro Leu Thr Ile Asp Gly Thr Thr  
 1 5 10 15

Tyr Asp Val Ser Ala Trp Val Asn Phe His Pro Gly Gly Ala Glu Ile  
 20 25 30

Ile Glu Asn Tyr Gln Gly Arg Asp Ala Thr Asp Ala Phe Met Val Met  
 35 40 45

His Ser Gln Glu Ala Phe Asp Lys Leu Lys Arg Met Pro Lys Ile Asn  
 50 55 60

Pro Ser Ser Glu Leu Pro Pro Gln Ala Ala Val Asn Glu Ala Gln Glu  
 65 70 75 80

Asp Phe Arg Lys Leu Arg Glu Glu Leu Ile Ala Thr Gly Met Phe Asp  
 85 90 95

Ala Ser Pro Leu Trp Tyr Ser Tyr Lys Ile Ser Thr Thr Leu Gly Leu  
 100 105 110

Gly Val Leu Gly Tyr Phe Leu Met Val Gln Tyr Gln Met Tyr Phe Ile  
 115 120 125

Gly Ala Val Leu Leu Gly Met His Tyr Gln Gln Met Gly Trp Leu Ser  
 130 135 140

His Asp Ile Cys His His Gln Thr Phe Lys Asn Arg Asn Trp Asn Asn  
 145 150 155 160

Leu Val Gly Leu Val Phe Gly Asn Gly Leu Gln Gly Phe Ser Val Thr  
 165 170 175

Cys Trp Lys Asp Arg His Asn Ala His His Ser Ala Thr Asn Val Gln  
 180 185 190

Gly His Asp Pro Asp Ile Asp Asn Leu Pro Leu Leu Ala Trp Ser Glu  
 195 200 205

Asp Asp Val Thr Arg Ala Ser Pro Ile Ser Arg Lys Leu Ile Gln Phe  
 210 215 220

Gln Gln Tyr Tyr Phe Leu Val Ile Cys Ile Leu Leu Arg Phe Ile Trp  
 225 230 235 240

4

Cys Phe Gln Ser Val Leu Thr Val Arg Ser Leu Lys Asp Arg Asp Asn  
245 250 255

Gln Phe Tyr Arg Ser Gln Tyr Lys Lys Glu Ala Ile Gly Leu Ala Leu  
260 265 270

His Trp Thr Leu Lys Ala Leu Phe His Leu Phe Phe Met Pro Ser Ile  
275 280 285

Leu Thr Ser Leu Leu Val Phe Phe Val Ser Glu Leu Val Gly Gly Phe  
290 295 300

Gly Ile Ala Ile Val Val Phe Met Asn His Tyr Pro Leu Glu Lys Ile  
305 310 315 320

Gly Asp Ser Val Trp Asp Gly His Gly Phe Ser Val Gly Gln Ile His  
325 330 335

Glu Thr Met Asn Ile Arg Arg Gly Ile Ile Thr Asp Trp Phe Phe Gly  
340 345 350

Gly Leu Asn Tyr Gln Ile Glu His His Leu Trp Pro Thr Leu Pro Arg  
355 360 365

His Asn Leu Thr Ala Val Ser Tyr Gln Val Glu Gln Leu Cys Gln Lys  
370 375 380

His Asn Leu Pro Tyr Arg Asn Pro Leu Pro His Glu Gly Leu Val Ile  
385 390 395 400

Leu Leu Arg Tyr Leu Ala Val Phe Ala Arg Met Ala Glu Lys Gln Pro  
405 410 415

Ala Gly Lys Ala Leu  
420

<210> 3  
<211> 777  
<212> DNA  
<213> Isochrysis galbana

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(777)  
<223> Delta-9-Elongase

<400> 3  
atg gcc ctc gca aac gac gcg gga gag cgc atc tgg gcg gct gtg acc  
Met Ala Leu Ala Asn Asp Ala Gly Glu Arg Ile Trp Ala Ala Val Thr  
1 5 10 15

48

gac ccg gaa atc ctc att ggc acc ttc tcg tac ttg cta ctc aaa ccg  
Asp Pro Glu Ile Leu Ile Gly Thr Phe Ser Tyr Leu Leu Leu Lys Pro  
20 25 30

96

WO 2005/012316

5

ctg ctc cgc aat tcc ggg ctg gtg gat gag aag aag ggc gca tac agg 144  
 Leu Leu Arg Asn Ser Gly Leu Val Asp Glu Lys Lys Gly Ala Tyr Arg  
 35 40 45  
 acg tcc atg atc tgg tac aac gtt ctg ctg gcg ctc ttc tct gcg ctg 192  
 Thr Ser Met Ile Trp Tyr Asn Val Leu Leu Ala Leu Phe Ser Ala Leu  
 50 55 60  
 agc ttc tac gtg acg gcg acc gcc ctc ggc tgg gac tat ggt acg ggc 240  
 Ser Phe Tyr Val Thr Ala Thr Ala Leu Gly Trp Asp Tyr Gly Thr Gly  
 65 70 75 80  
 gcg tgg ctg cgc agg caa acc ggc gac aca ccg cag ccg ctc ttc cag 288  
 Ala Trp Leu Arg Arg Gln Thr Gly Asp Thr Pro Gln Pro Leu Phe Gln  
 85 90 95  
 tgc ccg tcc ccg gtt tgg gac tgg aag ctc ttc aca tgg acc gcc aag 336  
 Cys Pro Ser Pro Val Trp Asp Ser Lys Leu Phe Thr Trp Thr Ala Lys  
 100 105 110  
 gca ttc tat tac tcc aag tac gtg gag tac ctc gac acg gcc tgg ctg 384  
 Ala Phe Tyr Tyr Ser Lys Tyr Val Glu Tyr Leu Asp Thr Ala Trp Leu  
 115 120 125  
 agg gtc tcc ttt ctc cag gcc ttc cac cac ttt ggc gcg ccg tgg gat 432  
 Arg Val Ser Phe Leu Gln Ala Phe His His Phe Gly Ala Pro Trp Asp  
 130 135 140  
 gtg tac ctc ggc att ccg ctg cac aac gag ggc gta tgg atc ttc atg 480  
 Val Tyr Leu Gly Ile Arg Leu His Asn Glu Gly Val Trp Ile Phe Met  
 145 150 155 160  
 ttt ttc aac tgg ttc att cac acc atc atg tac acc tac tac ggc ctc 528  
 Phe Phe Asn Ser Phe Ile His Thr Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu  
 165 170 175  
 acc gcc gcc ggg tat aag ttc aag gcc aag ccg ctc atc acc gcg atg 576  
 Thr Ala Ala Gly Tyr Lys Phe Lys Ala Lys Pro Leu Ile Thr Ala Met  
 180 185 190  
 cag atc tgc cag ttc gtg ggc gcc ttc ctg ttg gtc tgg gac tac atc 624  
 Gln Ile Cys Gln Phe Val Gly Gly Phe Leu Leu Val Trp Asp Tyr Ile  
 195 200 205  
 aac gtc ccc tgc ttc aac tgg gac aaa ggg aag ttg ttc agc tgg gct 672  
 Asn Val Pro Cys Phe Asn Ser Asp Lys Gly Lys Leu Phe Ser Trp Ala  
 210 215 220  
 ttc aac tat gca tac gtc ggc tgg gtc ttc ttg ctc ttc tgc cac ttt 720  
 Phe Asn Tyr Ala Tyr Val Gly Ser Val Phe Leu Leu Phe Cys His Phe  
 225 230 235 240  
 ttc tac cag gac aac ttg gca acg aag aaa tgg gcc aag gcg ggc aag 768  
 Phe Tyr Gln Asp Asn Leu Ala Thr Lys Lys Ser Ala Lys Ala Gly Lys  
 245 250 255  
 cag ctc tag 777  
 Gln Leu

<210> 4  
 <211> 258  
 <212> PRT  
 <213> Isochrysis galbana  
 <400> 4

Met Ala Leu Ala Asn Asp Ala Gly Glu Arg Ile Trp Ala Ala Val Thr  
 1 5 10 15  
 Asp Pro Glu Ile Leu Ile Gly Thr Phe Ser Tyr Leu Leu Leu Lys Pro  
 20 25 30  
 Leu Leu Arg Asn Ser Gly Leu Val Asp Glu Lys Lys Gly Ala Tyr Arg  
 35 40 45  
 Thr Ser Met Ile Trp Tyr Asn Val Leu Leu Ala Leu Phe Ser Ala Leu  
 50 55 60  
 Ser Phe Tyr Val Thr Ala Thr Ala Leu Gly Trp Asp Tyr Gly Thr Gly  
 65 70 75 80  
 Ala Trp Leu Arg Arg Gln Thr Gly Asp Thr Pro Gln Pro Leu Phe Gln  
 85 90 95  
 Cys Pro Ser Pro Val Trp Asp Ser Lys Leu Phe Thr Trp Thr Ala Lys  
 100 105 110  
 Ala Phe Tyr Tyr Ser Lys Tyr Val Glu Tyr Leu Asp Thr Ala Trp Leu  
 115 120 125  
 Arg Val Ser Phe Leu Gln Ala Phe His His Phe Gly Ala Pro Trp Asp  
 130 135 140  
 Val Tyr Leu Gly Ile Arg Leu His Asn Glu Gly Val Trp Ile Phe Met  
 145 150 155 160  
 Phe Phe Asn Ser Phe Ile His Thr Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu  
 165 170 175  
 Thr Ala Ala Gly Tyr Lys Phe Lys Ala Lys Pro Leu Ile Thr Ala Met  
 180 185 190  
 Gln Ile Cys Gln Phe Val Gly Gly Phe Leu Leu Val Trp Asp Tyr Ile  
 195 200 205  
 Asn Val Pro Cys Phe Asn Ser Asp Lys Gly Lys Leu Phe Ser Trp Ala  
 210 215 220  
 Phe Asn Tyr Ala Tyr Val Gly Ser Val Phe Leu Leu Phe Cys His Phe  
 225 230 235 240  
 Phe Tyr Gln Asp Asn Leu Ala Thr Lys Lys Ser Ala Lys Ala Gly Lys  
 245 250 255  
 Gln Leu

WO 2005/012316

7

<210> 5  
 <211> 1410  
 <212> DNA  
 <213> Phaeodactylum tricornutum

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1410)  
 <223> Delta-5-Desaturase

<400> 5  
 atg gct ccg gat gcg gat aag ctt cga caa cgc cag acg act gcg gta 48  
 Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val  
 1 5 10 15  
 gcg aag cac aat gct gct acc ata tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt 96  
 Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser  
 20 25 30  
 ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa gtc tgc atc gac gga atc atc tat 144  
 Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr  
 35 40 45  
 gac ctc caa tca ttc gat cat ccc ggg ggt gaa acg atc aaa atg ttt 192  
 Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe  
 50 55 60  
 ggt ggc aac gat gtc act gta cag tac aag atg att cac ccg tac cat 240  
 Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His  
 65 70 75 80  
 acc gag aag cat ttg gaa aag atg aag cgt gtc ggc aag gtg acg gat 288  
 Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp  
 85 90 95  
 ttc gtc tgc gag tac aag ttc gat acc gaa ttt gaa cgc gaa atc aaa 336  
 Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys  
 100 105 110  
 cga gaa gtc ttc aag att gtg cga cga ggc aag gat ttc ggt act ttg 384  
 Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu  
 115 120 125  
 gga tgg ttc ttc cgt gcg ttt tgc tac att gcc att ttc ttc tac ctg 432  
 Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu  
 130 135 140  
 cag tac cat tgg gtc acc acg gga acc tct tgg ctg ctg gcc gtg gcc 480  
 Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala  
 145 150 155 160  
 tac gga atc tcc caa gcg atg att ggc atg aat gtc cag cac gat gcc 528  
 Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala  
 165 170 175  
 aac cac ggg gcc acc tcc aag cgt ccc tgg gtc aac gac atg cta ggc 576  
 Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly  
 180 185 190  
 ctc ggt gcg gat ttt att ggt ggt tcc aag tgg ctc tgg cag gaa caa 624  
 Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln  
 195 200 205  
 cac tgg acc cac cac gct tac acc aat cac gcc gag atg gat gcc gat 672  
 His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp  
 210 215 220

```

agc ttt ggt gcc gaa cca atg ctc cta ttc aac gac tat ccc ttg gat      720
Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp
225                      230                      235                      240

cat ccc gct cgt acc tgg cta cat cgc ttt caa gca ttc ttt tac atg      768
His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met
245                      250                      255

ccc gtc ttg gct gga tac tgg ttg tcc gct gtc ttc aat cca caa att      816
Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile
260                      265                      270

ctt gac ctc cag caa cgc ggc gca ctt tcc gtc ggt atc cgt ctc gac      864
Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp
275                      280                      285

aac gct ttc att cac tcg cga cgc aag tat gcg gtt ttc tgg cgg gct      912
Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala
290                      295                      300

gtg tac att gcg gtg aac gtg att gct ccg ttt tac aca aac tcc ggc      960
Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly
305                      310                      315                      320

ctc gaa tgg tcc tgg cgt gtc ttt gga aac atc atg ctc atg ggt gtg      1008
Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val
325                      330                      335

gcg gaa tcg ctc gcg ctg gcg gtc ctg ttt tcg ttg tcg cac aat ttc      1056
Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe
340                      345                      350

gaa tcc gcg gat cgc gat ccg acc gcc cca ctg aaa aag acg gga gaa      1104
Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu
355                      360                      365

cca gtc gac tgg ttc aag aca cag gtc gaa act tcc tgc act tac ggt      1152
Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly
370                      375                      380

gga ttc ctt tcc ggt tgc ttc acg gga ggt ctc aac ttt cag gtt gaa      1200
Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu
385                      390                      395                      400

cac cac ttg ttc cca cgc atg agc agc gct tgg tat ccc tac att gcc      1248
His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala
405                      410                      415

ccc aag gtc cgc gaa att tgc gcc aaa cac ggc gtc cac tac gcc tac      1296
Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr
420                      425                      430

tac ccg tgg atc cac caa aac ttt ctc tcc acc gtc cgc tac atg cac      1344
Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His
435                      440                      445

gcg gcc ggg acc ggt gcc aac tgg cgc cag atg gcc aga gaa aat ccc      1392
Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro
450                      455                      460

ttg acc gga cgg gcg taa
Leu Thr Gly Arg Ala
465

```

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 469

&lt;212&gt; PRT

WO 2005/012316

9

&lt;213&gt; Phaeodactylum tricornutum

&lt;400&gt; 6

Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val  
 1 5 10 15  
 Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser  
 20 25 30  
 Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr  
 35 40 45  
 Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe  
 50 55 60  
 Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His  
 65 70 75 80  
 Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp  
 85 90 95  
 Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys  
 100 105 110  
 Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu  
 115 120 125  
 Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu  
 130 135 140  
 Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala  
 145 150 155 160  
 Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala  
 165 170 175  
 Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly  
 180 185 190  
 Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln  
 195 200 205  
 His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp  
 210 215 220  
 Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp  
 225 230 235 240  
 His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met  
 245 250 255



10

Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile  
 260 265 270

Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp  
 275 280 285

Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala  
 290 295 300

Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly  
 305 310 315 320

Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val  
 325 330 335

Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe  
 340 345 350

Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu  
 355 360 365

Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly  
 370 375 380

Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu  
 385 390 395 400

His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala  
 405 410 415

Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr  
 420 425 430

Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His  
 435 440 445

Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro  
 450 455 460

Leu Thr Gly Arg Ala  
 465

<210> 7  
 <211> 1344  
 <212> DNA  
 <213> *Ceratodon purpureus*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1) .. (1344)  
 <223> Delta-5-Desaturase

<400> 7

WO 2005/012316

11

atg gta tta cga gag caa gag cat gag cca ttc ttc att aaa att gat 48  
 Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp 15  
 1 5 10

gga aaa tgg tgt caa att gac gat gct gtc ctg aga tca cat cca ggt 96  
 Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly 30  
 20 25

ggt agt gca att act acc tat aaa aat atg gat gcc act acc gta ttc 144  
 Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe 45  
 35 40

cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa 192  
 His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu 60  
 50 55

ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag 240  
 Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 80  
 65 70 75

gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat 288  
 Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 95  
 85 90

att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta 336  
 Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 110  
 100 105

cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384  
 Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe 125  
 115 120

tac att aga aaa att ctt gaa aca atc ttc aca att ctt ttt gca ttc 432  
 Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe 140  
 130 135

tac ctt caa tac cac aca tat tat ctt cca tca gct att cta atg gga 480  
 Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly 160  
 145 150 155

gtt gcg tgg caa caa ttg gga tgg tta atc cat gaa ttc gca cat cat 528  
 Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His 175  
 165 170

cag ttg ttc aaa aac aga tac tac aat gat ttg gcc agc tat ttc gtt 576  
 Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val 190  
 180 185

gga aac ttt tta caa gga ttc tca tct ggt ggt tgg aaa gag cag cac 624  
 Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His 205  
 195 200

aat gtg cat cac gca gcc aca aat gtt gtt gga cga gac gga gat ctt 672  
 Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu 220  
 210 215

gat tta gtc cca ttc tat gct aca gtg gca gaa cat ctc aac aat tat 720  
 Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr 240  
 225 230 235

tct cag gat tca tgg gtt atg act cta ttc aga tgg caa cat gtt cat 768  
 Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His 255  
 245 250

tgg aca ttc atg tta cca ttc ctc cgt ctc tgg tgg ctt ctt cag tca 816  
 Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser 270  
 260 265

## 12

atc att ttt gtt agt cag atg cca act cat tat tat gac tat tac aga 864  
 Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg.  
 275 280 285

aat act gcg att tat gaa cag gtt ggt ctc tct ttg cac tgg gct tgg 912  
 Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp  
 290 295 300

tca ttg ggt caa ttg tat ttc cta ccc gat tgg tca act aga ata atg 960  
 Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met  
 305 310 315 320

ttc ttc ctt gtt tct cat ctt gtt gga ggt ttc ctg ctc tct cat gta 1008  
 Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val  
 325 330 335

gtt act ttc aat cat tat tca gtg gag aag ttt gca ttg agc tcg aac 1056  
 Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn  
 340 345 350

atc atg tca aat tac gct tgt ctt caa atc atg acc aca aga aat atg 1104  
 Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met  
 355 360 365

aga cct gga aga ttc att gac tgg ctt tgg gga ggt ctt aac tat cag 1152  
 Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln  
 370 375 380

att gag cac cat ctt ttc cca acg atg cca cga cac aac ttg aac act 1200  
 Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr  
 385 390 395 400

gtt atg cca ctt gtt aag gag ttt gca gca gca aat ggt tta cca tac 1248  
 Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr  
 405 410 415

atg gtc gac gat tat ttc aca gga ttc tgg ctt gaa att gag caa ttc 1296  
 Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe  
 420 425 430

cga aat att gca aat gtt gct gct aaa ttg act aaa aag att gcc tag 1344  
 Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala  
 435 440 445

<210> 8  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 <213> Ceratodon purpureus

<400> 8

Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp  
 1 5 10 15

Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly  
 20 25 30

Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe  
 35 40 45

His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu  
 50 55 60

WO 2005/012316

13

Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 80  
 65 70 75

Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 95  
 85 90

Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 110  
 100 105

Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe 125  
 115 120

Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe 140  
 130 135

Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly 160  
 145 150 155

Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His 175  
 165 170

Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val 190  
 180 185

Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His 205  
 195 200

Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu 220  
 210 215

Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr 240  
 225 230 235

Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His 255  
 245 250

Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser 270  
 260 265

Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg 285  
 275 280

Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp 300  
 290 295

Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met 320  
 305 310 315

Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val 335  
 325 330

14

Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn  
340 345 350

Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met  
355 360 365

Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln  
370 375 380

Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr  
385 390 395 400

Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr  
405 410 415

Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe  
420 425 430

Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala  
435 440 445

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 1443

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Physcomitrella patens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(1443)

&lt;223&gt; Delta-5-Desaturase

&lt;400&gt; 9

atg gcg ccc cac tct gcg gat act gct ggg ctc gtg cct tct gac gaa 48  
Met Ala Pro His Ser Ala Asp Thr Ala Gly Leu Val Pro Ser Asp Glu  
1 5 10 15

ttg agg cta cga acg tcg aat tca aag ggt ccc gaa caa gag caa act 96  
Leu Arg Leu Arg Thr Ser Asn Ser Lys Gly Pro Glu Gln Glu Gln Thr  
20 25 30

ttg aag aag tac acc ctt gaa gat gtc agc cgc cac aac acc cca gca 144  
Leu Lys Lys Tyr Thr Leu Glu Asp Val Ser Arg His Asn Thr Pro Ala  
35 40 45

gat tgt tgg ttg gtg ata tgg ggc aaa gtc tac gat gtc aca agc tgg 192  
Asp Cys Trp Leu Val Ile Trp Gly Lys Val Tyr Asp Val Thr Ser Trp  
50 55 60

att ccc aat cat ccg ggg ggc agt ctc atc cac gta aaa gca ggg cag 240  
Ile Pro Asn His Pro Gly Gly Ser Leu Ile His Val Lys Ala Gly Gln  
65 70 75 80

gat tcc act cag ctt ttc gat tcc tat cac ccc ctt tat gtc agg aaa 288  
Asp Ser Thr Gln Leu Phe Asp Ser Tyr His Pro Leu Tyr Val Arg Lys  
85 90 95

atg ctc gcg aag tac tgt att ggg gaa tta gta ccg tct gct ggt gat. 336  
Met Leu Ala Lys Tyr Cys Ile Gly Glu Leu Val Pro Ser Ala Gly Asp  
100 105 110

## 15

gac aag ttt aag aaa gca act ctg gag tat gca gat gcc gaa aat gaa Asp Lys Phe Lys Lys Ala Thr Leu Glu Tyr Ala Asp Ala Glu Asn Glu 115 120 125	384
gat ttc tat ttg gtt gtg aag caa cga gtt gaa tct tat ttc aag agt Asp Phe Tyr Leu Val Val Lys Gln Arg Val Glu Ser Tyr Phe Lys Ser 130 135 140	432
aac aag ata aac ccc caa att cat cca cat atg atc ctg aag tca ttg Asn Lys Ile Asn Pro Gln Ile His Pro His Met Ile Leu Lys Ser Leu 145 150 155 160	480
ttc att ctt ggg gga tat ttc gcc agt tac tat tta gcg ttc ttc tgg Phe Ile Leu Gly Gly Tyr Phe Ala Ser Tyr Tyr Leu Ala Phe Phe Trp 165 170 175	528
tct tca agt gtc ctt gtt tct ttg ttt ttc gca ttg tgg atg ggg ttc Ser Ser Ser Val Leu Val Ser Leu Phe Phe Ala Leu Trp Met Gly Phe 180 185 190	576
ttc gca gcg gaa gtc ggc gtg tcg att caa cat gat gga aat cat ggt Phe Ala Ala Glu Val Gly Val Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly 195 200 205	624
tca tac act aaa tgg cgt ggc ttt gga tat atc atg gga gcc tcc cta Ser Tyr Thr Lys Trp Arg Gly Phe Gly Tyr Ile Met Gly Ala Ser Leu 210 215 220	672
gat cta gtc gga gcc agt agc ttc atg tgg aga cag caa cac gtt gtg Asp Leu Val Gly Ala Ser Ser Phe Met Trp Arg Gln Gln His Val Val 225 230 235 240	720
gga cat cac tcg ttt aca aat gtg gac aac tac gat cct gat att cgt Gly His His Ser Phe Thr Asn Val Asp Asn Tyr Asp Pro Asp Ile Arg 245 250 255	768
gtg aaa gat cca gat gtc agg agg gtt gcg acc aca caa cca aga caa Val Lys Asp Pro Asp Val Arg Arg Val Ala Thr Thr Gln Pro Arg Gln 260 265 270	816
tgg tat cat gcg tat cag cat atc tac ctg gca gta tta tat gga act Trp Tyr His Ala Tyr Gln His Ile Tyr Leu Ala Val Leu Tyr Gly Thr 275 280 285	864
cta gct ctt aag agt att ttt cta gat gat ttc ctt gcg tac ttc aca Leu Ala Leu Lys Ser Ile Phe Leu Asp Asp Phe Leu Ala Tyr Phe Thr 290 295 300	912
gga tca att ggc cct gtc aag gtg gcg aaa atg acc ccc ctg gag ttc Gly Ser Ile Gly Pro Val Lys Val Ala Lys Met Thr Pro Leu Glu Phe 305 310 315 320	960
aac atc ttc ttt cag gga aag ctg cta tat gcg ttc tac atg ttc gtg Asn Ile Phe Phe Gln Gly Lys Leu Leu Tyr Ala Phe Tyr Met Phe Val 325 330 335	1008
ttg cca tct gtg tac ggt gtt cac tcc gga gga act ttc ttg gca cta Leu Pro Ser Val Tyr Gly Val His Ser Gly Gly Thr Phe Leu Ala Leu 340 345 350	1056
tat gtg gct tct cag ctc att aca ggt tgg atg tta gct ttt ctt ttt Tyr Val Ala Ser Gln Leu Ile Thr Gly Trp Met Leu Ala Phe Leu Phe 355 360 365	1104
caa gta gca cat gtc gtg gat gat gtt gca ttt cct aca cca gaa ggt Gln Val Ala His Val Val Asp Asp Val Ala Phe Pro Thr Pro Glu Gly 370 375 380	1152

ggg aag gtg aag gga gga tgg gct gca atg cag gtt gca aca act acg 1200  
 Gly Lys Val Lys Gly Gly Trp Ala Ala Met Gln Val Ala Thr Thr Thr  
 385 390 395 400

gat ttc agt cca cgc tca tgg ttc tgg ggt cat gtc tct gga gga tta 1248  
 Asp Phe Ser Pro Arg Ser Trp Phe Trp Gly His Val Ser Gly Gly Leu  
 405 410 415

aac aac caa att gag cat cat ctg ttt cca gga gtg tgc cat gtt cat 1296  
 Asn Asn Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Gly Val Cys His Val His  
 420 425 430

tat cca gcc att cag cct att gtc gag aag acg tgc aag gaa ttc gat 1344  
 Tyr Pro Ala Ile Gln Pro Ile Val Glu Lys Thr Cys Lys Glu Phe Asp  
 435 440 445

gtg cct tat gta gcc tac cca act ttt tgg act gcg ttg aga gcc cac 1392  
 Val Pro Tyr Val Ala Tyr Pro Thr Phe Trp Thr Ala Leu Arg Ala His  
 450 455 460

ttt gcg cat ttg aaa aag gtt gga ttg aca gag ttt cgg ctc gat ggc 1440  
 Phe Ala His Leu Lys Lys Val Gly Leu Thr Glu Phe Arg Leu Asp Gly  
 465 470 475 480

tga 1443

<210> 10

<211> 480

<212> PRT

<213> Physcomitrella patens

<400> 10

Met Ala Pro His Ser Ala Asp Thr Ala Gly Leu Val Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15

Leu Arg Leu Arg Thr Ser Asn Ser Lys Gly Pro Glu Gln Glu Gln Thr  
 20 25 30

Leu Lys Lys Tyr Thr Leu Glu Asp Val Ser Arg His Asn Thr Pro Ala  
 35 40 45

Asp Cys Trp Leu Val Ile Trp Gly Lys Val Tyr Asp Val Thr Ser Trp  
 50 55 60

Ile Pro Asn His Pro Gly Gly Ser Leu Ile His Val Lys Ala Gly Gln  
 65 70 75 80

Asp Ser Thr Gln Leu Phe Asp Ser Tyr His Pro Leu Tyr Val Arg Lys  
 85 90 95

Met Leu Ala Lys Tyr Cys Ile Gly Glu Leu Val Pro Ser Ala Gly Asp  
 100 105 110

Asp Lys Phe Lys Lys Ala Thr Leu Glu Tyr Ala Asp Ala Glu Asn Glu  
 115 120 125

Asp Phe Tyr Leu Val Val Lys Gln Arg Val Glu Ser Tyr Phe Lys Ser  
 130 135 140

Asn Lys Ile Asn Pro Gln Ile His Pro His Met Ile Leu Lys Ser Leu  
 145 150 155 160

Phe Ile Leu Gly Gly Tyr Phe Ala Ser Tyr Tyr Leu Ala Phe Phe Trp  
 165 170 175

Ser Ser Ser Val Leu Val Ser Leu Phe Phe Ala Leu Trp Met Gly Phe  
 180 185 190

Phe Ala Ala Glu Val Gly Val Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly  
 195 200 205

Ser Tyr Thr Lys Trp Arg Gly Phe Gly Tyr Ile Met Gly Ala Ser Leu  
 210 215 220

Asp Leu Val Gly Ala Ser Ser Phe Met Trp Arg Gln Gln His Val Val  
 225 230 235 240

Gly His His Ser Phe Thr Asn Val Asp Asn Tyr Asp Pro Asp Ile Arg  
 245 250 255

Val Lys Asp Pro Asp Val Arg Arg Val Ala Thr Thr Gln Pro Arg Gln  
 260 265 270

Trp Tyr His Ala Tyr Gln His Ile Tyr Leu Ala Val Leu Tyr Gly Thr  
 275 280 285

Leu Ala Leu Lys Ser Ile Phe Leu Asp Asp Phe Leu Ala Tyr Phe Thr  
 290 295 300

Gly Ser Ile Gly Pro Val Lys Val Ala Lys Met Thr Pro Leu Glu Phe  
 305 310 315 320

Asn Ile Phe Phe Gln Gly Lys Leu Leu Tyr Ala Phe Tyr Met Phe Val  
 325 330 335

Leu Pro Ser Val Tyr Gly Val His Ser Gly Gly Thr Phe Leu Ala Leu  
 340 345 350

Tyr Val Ala Ser Gln Leu Ile Thr Gly Trp Met Leu Ala Phe Leu Phe  
 355 360 365

Gln Val Ala His Val Val Asp Asp Val Ala Phe Pro Thr Pro Glu Gly  
 370 375 380

Gly Lys Val Lys Gly Gly Trp Ala Ala Met Gln Val Ala Thr Thr Thr  
 385 390 395 400

Asp Phe Ser Pro Arg Ser Trp Phe Trp Gly His Val Ser Gly Gly Leu  
 405 410 415



Asn Asn Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Gly Val Cys His Val His  
420 425 430

Tyr Pro Ala Ile Gln Pro Ile Val Glu Lys Thr Cys Lys Glu Phe Asp  
435 440 445

Val Pro Tyr Val Ala Tyr Pro Thr Phe Trp Thr Ala Leu Arg Ala His  
450 455 460

Phe Ala His Leu Lys Lys Val Gly Leu Thr Glu Phe Arg Leu Asp Gly  
465 470 475 480

<210> 11  
<211> 1320  
<212> DNA  
<213> Thraustrochytrium

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1320)  
<223>

<400> 11  
atg ggc aag ggc agc gag ggc cgc agc gcg gcg cgc gag atg acg gcc 48  
Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala  
1 5 10 15  
gag gcg aac ggc gac aag cgg aaa acg att ctg atc gag ggc gtc ctg 96  
Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu  
20 25 30  
tac gac gcg acg aac ttt aag cac ccg ggc ggt tcg atc atc aac ttc 144  
Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe  
35 40 45  
ttg acc gag ggc gag gcc ggc gtg gac gcg acg cag gcg tac cgc gag 192  
Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu  
50 55 60  
ttt cat cag cgg tcc ggc aag gcc gac aag tac ctc aag tcg ctg ccg 240  
Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro  
65 70 75 80  
aag ctg gat gcg tcc aag gtg gag tcg cgg ttc tcg gcc aaa gag cag 288  
Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln  
85 90 95  
gcg cgg cgc gac gcc atg acg cgc gac tac gcg gcc ttt cgc gag gag 336  
Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu  
100 105 110  
ctc gtc gcc gag ggg tac ttt gac ccg tcg atc ccg cac atg att tac 384  
Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr  
115 120 125  
cgc gtc gtg gag atc gtg gcg ctc ttc gcg ctc tcg ttc tgg ctc atg 432  
Arg Val Val Glu Ile Val Ala Leu Phe Ala Leu Ser Phe Trp Leu Met  
130 135 140  
tcc aag gcc tcg ccc acc tcg ctc gtg ctg ggc gtg gtg atg aac ggc 480  
Ser Lys Ala Ser Pro Thr Ser Leu Val Leu Gly Val Val Met Asn Gly

145	150	155	160	
att gcg cag ggc cgc tgc ggc tgg gtc atg cac gag atg ggc cac ggg Ile Ala Gln Gly Arg Cys Gly Trp Val Met His Glu Met Gly His Gly 165 170 175				528
tcg ttc acg ggc gtc atc tgg ctc gac gac cgg atg tgc gag ttc ttc Ser Phe Thr Gly Val Ile Trp Leu Asp Arg Met Cys Glu Phe Phe 180 185 190				576
tac ggc gtc ggc tgc ggc atg agc ggg cac tac tgg aag aac cag cac Tyr Gly Val Gly Cys Gly Met Ser Gly His Tyr Trp Lys Asn Gln His 195 200 205				624
agc aag cac cac gcc gcg ccc aac cgc ctc gag cac gat gtc gat ctc Ser Lys His His Ala Ala Pro Asn Arg Leu Glu His Asp Val Asp Leu 210 215 220				672
aac acg ctg ccc ctg gtc gcc ttt aac gag cgc gtc gtg cgc aag gtc Asn Thr Leu Pro Leu Val Ala Phe Asn Glu Arg Val Val Arg Lys Val 225 230 235 240				720
aag cgc gga tcg ctg ctg gcg ctc tgg ctg cgc gtg cag gcg tac ctc Lys Pro Gly Ser Leu Leu Ala Leu Trp Leu Arg Val Gln Ala Tyr Leu 245 250 255				768
ttt gcg ccc gtc tcg tgc ctg ctc atc ggc ctt ggc tgg acg ctc tac Phe Ala Pro Val Ser Cys Leu Leu Ile Gly Leu Gly Trp Thr Leu Tyr 260 265 270				816
ctg cac ccg cgc tac atg ctg cgc acc aag cgg cac atg gag ttc gtc Leu His Pro Arg Tyr Met Leu Arg Thr Lys Arg His Met Glu Phe Val 275 280 285				864
tgg atc ttc gcg cgc tac att ggc tgg ttc tcg ctc atg ggc gct ctc Trp Ile Phe Ala Arg Tyr Ile Gly Trp Phe Ser Leu Met Gly Ala Leu 290 295 300				912
ggc tac tcg ccg ggc acc tcg gtc ggg atg tac ctg tgc tcg ttc ggc Gly Tyr Ser Pro Gly Thr Ser Val Gly Met Tyr Leu Cys Ser Phe Gly 305 310 315 320				960
ctc ggc tgc att tac att ttc ctg cag ttc gcc gtc agc cac acg cac Leu Gly Cys Ile Tyr Ile Phe Leu Gln Phe Ala Val Ser His Thr His 325 330 335				1008
ctg ccg gtg acc aac ccg gag gac cag ctg cac tgg ctc gag tac gcg Leu Pro Val Thr Asn Pro Glu Asp Gln Leu His Trp Leu Glu Tyr Ala 340 345 350				1056
gcc gac cac acg gtg aac att agc acc aag tcc tgg ctc gtc acg tgg Ala Asp His Thr Val Asn Ile Ser Thr Lys Ser Trp Leu Val Thr Trp 355 360 365				1104
tgg atg tcg aac ctg aac ttt cag atc gag cac cac ctc ttc ccc acg Trp Met Ser Asn Leu Asn Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr 370 375 380				1152
gcg ccg cag ttc cgc ttc aag gaa atc agt cct cgc gtc gag gcc ctc Ala Pro Gln Phe Arg Phe Lys Glu Ile Ser Pro Arg Val Glu Ala Leu 385 390 395 400				1200
ttc aag cgc cac aac ctc ccg tac tac gac ctg ccc tac acg agc gcg Phe Lys Arg His Asn Leu Pro Tyr Tyr Asp Leu Pro Tyr Thr Ser Ala 405 410 415				1248
gtc tcg acc acc ttt gcc aat ctt tat tcc gtc ggc cac tcg gtc ggc Val Ser Thr Thr Phe Ala Asn Leu Tyr Ser Val Gly His Ser Val Gly 420 425 430 435 440 445				1296

20

420 425 430 1320  
gcc gac acc aag aag cag gac tga  
Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp  
435

<210> 12  
<211> 439  
<212> PRT  
<213> Thraustrochytrium

<400> 12

Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala  
1 5 10 15

Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu  
20 25 30

Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe  
35 40 45

Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu  
50 55 60

Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro  
65 70 75 80

Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln  
85 90 95

Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu  
100 105 110

Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr  
115 120 125

Arg Val Val Glu Ile Val Ala Leu Phe Ala Leu Ser Phe Trp Leu Met  
130 135 140

Ser Lys Ala Ser Pro Thr Ser Leu Val Leu Gly Val Val Met Asn Gly  
145 150 155 160

Ile Ala Gln Gly Arg Cys Gly Trp Val Met His Glu Met Gly His Gly  
165 170 175

Ser Phe Thr Gly Val Ile Trp Leu Asp Asp Arg Met Cys Glu Phe Phe  
180 185 190

Tyr Gly Val Gly Cys Gly Met Ser Gly His Tyr Trp Lys Asn Gln His  
195 200 205

Ser Lys His His Ala Ala Pro Asn Arg Leu Glu His Asp Val Asp Leu  
210 215 220

Asn Thr Leu Pro Leu Val Ala Phe Asn Glu Arg Val Val Arg Lys Val  
 225 230 235 240  
 Lys Pro Gly Ser Leu Leu Ala Leu Trp Leu Arg Val Gln Ala Tyr Leu  
 245 250 255  
 Phe Ala Pro Val Ser Cys Leu Leu Ile Gly Leu Gly Trp Thr Leu Tyr  
 260 265 270  
 Leu His Pro Arg Tyr Met Leu Arg Thr Lys Arg His Met Glu Phe Val  
 275 280 285  
 Trp Ile Phe Ala Arg Tyr Ile Gly Trp Phe Ser Leu Met Gly Ala Leu  
 290 295 300  
 Gly Tyr Ser Pro Gly Thr Ser Val Gly Met Tyr Leu Cys Ser Phe Gly  
 305 310 315 320  
 Leu Gly Cys Ile Tyr Ile Phe Leu Gln Phe Ala Val Ser His Thr His  
 325 330 335  
 Leu Pro Val Thr Asn Pro Glu Asp Gln Leu His Trp Leu Glu Tyr Ala  
 340 345 350  
 Ala Asp His Thr Val Asn Ile Ser Thr Lys Ser Trp Leu Val Thr Trp  
 355 360 365  
 Trp Met Ser Asn Leu Asn Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr  
 370 375 380  
 Ala Pro Gln Phe Arg Phe Lys Glu Ile Ser Pro Arg Val Glu Ala Leu  
 385 390 395 400  
 Phe Lys Arg His Asn Leu Pro Tyr Tyr Asp Leu Pro Tyr Thr Ser Ala  
 405 410 415  
 Val Ser Thr Thr Phe Ala Asn Leu Tyr Ser Val Gly His Ser Val Gly  
 420 425 430  
 Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp  
 435  
 <210> 13  
 <211> 1341  
 <212> DNA  
 <213> Mortierella alpina  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1341)  
 <223> Delta-5-Desaturase

<400> 13  
 atg gga acg gac caa gga aaa acc ttc acc tgg gaa gag ctg gcg gcc 48  
 Met Gly Thr Asp Gln Gly Lys Thr Phe Thr Trp Glu Glu Leu Ala Ala  
 1 5 10 15  
  
 cat aac acc aag gac gac cta ctc ttg gcc atc cgc ggc agg gtg tac 96  
 His Asn Thr Lys Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ile Arg Gly Arg Val Tyr  
 20 25 30  
  
 gat gtc aca aag ttc ttg agc cgc cat cct ggt gga gtg gac act ctc 144  
 Asp Val Thr Lys Phe Leu Ser Arg His Pro Gly Gly Val Asp Thr Leu  
 35 40 45  
  
 ctg ctc gga gct ggc cga gat gtt act ccg gtc ttt gag atg tat cac 192  
 Leu Leu Gly Ala Gly Arg Asp Val Thr Pro Val Phe Glu Met Tyr His  
 50 55 60  
  
 gcg ttt ggg gct gca gat gcc att atg aag aag tac tat gtc ggt aca 240  
 Ala Phe Gly Ala Ala Asp Ala Ile Met Lys Lys Tyr Tyr Val Gly Thr  
 65 70 75 80  
  
 ctg gtc tcg aat gag ctg ccc atc ttc ccg gag cca acg gtg ttc cac 288  
 Leu Val Ser Asn Glu Leu Pro Ile Phe Pro Glu Pro Thr Val Phe His  
 85 90 95  
  
 aaa acc atc aag acg aga gtc gag ggc tac ttt acg gat cgg aac att 336  
 Lys Thr Ile Lys Thr Arg Val Glu Gly Tyr Phe Thr Asp Arg Asn Ile  
 100 105 110  
  
 gat ccc aag aat aga cca gag atc tgg gga cga tac gct ctt atc ttt 384  
 Asp Pro Lys Asn Arg Pro Glu Ile Trp Gly Arg Tyr Ala Leu Ile Phe  
 115 120 125  
  
 gga tcc ttg atc gct tcc tac tac gcg cag ctc ttt gtg cct ttc gtt 432  
 Gly Ser Leu Ile Ala Ser Tyr Tyr Ala Gln Leu Phe Val Pro Phe Val  
 130 135 140  
  
 gtc gaa cgc aca tgg ctt cag gtg gtg ttt gca atc atc atg gga ttt 480  
 Val Glu Arg Thr Trp Leu Gln Val Val Phe Ala Ile Ile Met Gly Phe  
 145 150 155 160  
  
 gcg tgc gca caa gtc gga ctc aac cct ctt cat gat gcg tct cac ttt 528  
 Ala Cys Ala Gln Val Gly Leu Asn Pro Leu His Asp Ala Ser His Phe  
 165 170 175  
  
 tca gtg acc cac aac ccc act gtc tgg aag att ctg gga gcc acg cac 576  
 Ser Val Thr His Asn Pro Thr Val Trp Lys Ile Leu Gly Ala Thr His  
 180 185 190  
  
 gac ttt ttc aac gga gca tcg tac ctg gtg tgg atg tac caa cat atg 624  
 Asp Phe Phe Asn Gly Ala Ser Tyr Leu Val Trp Met Tyr Gln His Met  
 195 200 205  
  
 ctc ggc cat cac ccc tac acc aac att gct gga gca gat ccc gac gtg 672  
 Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Ile Ala Gly Ala Asp Pro Asp Val  
 210 215 220  
  
 tcg acg tct gag ccc gat gtt cgt cgt atc aag ccc aac caa aag tgg 720  
 Ser Thr Ser Glu Pro Asp Val Arg Arg Ile Lys Pro Asn Gln Lys Trp  
 225 230 235 240  
  
 ttt gtc aac cac atc aac cag cac atg ttt gtt cct ttc ctg tac gga 768  
 Phe Val Asn His Ile Asn Gln His Met Phe Val Pro Phe Leu Tyr Gly  
 245 250 255  
  
 ctg ctg gcg ttc aag gtg cgc att cag gac atc aac att ttg tac ttt 816  
 Leu Leu Ala Phe Lys Val Arg Ile Gln Asp Ile Asn Ile Leu Tyr Phe

260	265	270	
gtc aag acc aat gac gct att cgt gtc aat ccc atc tcg aca tgg cac			864
Val Lys Thr Asn Asp Ala Ile Arg Val Asn Pro Ile Ser Thr Trp His			
275	280	285	
act gtg atg ttc tgg ggc ggc aag gct ttc ttt gtc tgg tat cgc ctg			912
Thr Val Met Phe Trp Gly Gly Lys Ala Phe Phe Val Trp Tyr Arg Leu			
290	295	300	
att gtt ccc ctg cag tat ctg ccc ctg ggc aag gtg ctg ctc ttg ttc			960
Ile Val Pro Leu Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Lys Val Leu Leu Leu Phe			
305	310	315	320
acg gtc gcg gac atg gtg tcg tct tac tgg ctg gcg ctg acc ttc cag			1008
Thr Val Ala Asp Met Val Ser Ser Tyr Trp Leu Ala Leu Thr Phe Gln			
325	330	335	
gcg aac cac gtt gtt gag gaa gtt cag tgg ccg ttg cct gac gag aac			1056
Ala Asn His Val Val Glu Glu Val Gln Trp Pro Leu Pro Asp Glu Asn			
340	345	350	
ggg atc atc caa aag gac tgg gca gct atg cag gtc gag act acg cag			1104
Gly Ile Ile Gln Lys Asp Trp Ala Ala Met Gln Val Glu Thr Thr Gln			
355	360	365	
gat tac gca cac gat tcg cac ctc tgg acc agc atc act ggc agc ttg			1152
Asp Tyr Ala His Asp Ser His Leu Trp Thr Ser Ile Thr Gly Ser Leu			
370	375	380	
aac tac cag gct gtg cac cat ctg ttc ccc aac gtg tcg cag cac cat			1200
Asn Tyr Gln Ala Val His His Leu Phe Pro Asn Val Ser Gln His His			
385	390	395	400
tat ccc gat att ctg gcc atc atc aag aac acc tgc agc gag tac aag			1248
Tyr Pro Asp Ile Leu Ala Ile Ile Lys Asn Thr Cys Ser Glu Tyr Lys			
405	410	415	
gtt cca tac ctt gtc aag gat acg ttt tgg caa gca ttt gct tca cat			1296
Val Pro Tyr Leu Val Lys Asp Thr Phe Trp Gln Ala Phe Ala Ser His			
420	425	430	
ttg gag cac ttg cgt gtt ctt gga ctc cgt ccc aag gaa gag tag			1341
Leu Glu His Leu Arg Val Leu Gly Leu Arg Pro Lys Glu Glu			
435	440	445	
<210> 14			
<211> 446			
<212> PRT			
<213> Mortierella alpina			
<400> 14			
Met Gly Thr Asp Gln Gly Lys Thr Phe Thr Trp Glu Glu Leu Ala Ala			
1	5	10	15
His Asn Thr Lys Asp Asp Leu Leu Leu Ala Ile Arg Gly Arg Val Tyr			
20	25	30	
Asp Val Thr Lys Phe Leu Ser Arg His Pro Gly Gly Val Asp Thr Leu			
35	40	45	
Leu Leu Gly Ala Gly Arg Asp Val Thr Pro Val Phe Glu Met Tyr His			
50	55	60	

Ala Phe Gly Ala Ala Asp Ala Ile Met Lys Lys Tyr Tyr Val Gly Thr  
 65 70 75 80  
 Leu Val Ser Asn Glu Leu Pro Ile Phe Pro Glu Pro Thr Val Phe His  
 85 90 95  
 Lys Thr Ile Lys Thr Arg Val Glu Gly Tyr Phe Thr Asp Arg Asn Ile  
 100 105 110  
 Asp Pro Lys Asn Arg Pro Glu Ile Trp Gly Arg Tyr Ala Leu Ile Phe  
 115 120 125  
 Gly Ser Leu Ile Ala Ser Tyr Tyr Ala Gln Leu Phe Val Pro Phe Val  
 130 135 140  
 Val Glu Arg Thr Trp Leu Gln Val Val Phe Ala Ile Ile Met Gly Phe  
 145 150 155 160  
 Ala Cys Ala Gln Val Gly Leu Asn Pro Leu His Asp Ala Ser His Phe  
 165 170 175  
 Ser Val Thr His Asn Pro Thr Val Trp Lys Ile Leu Gly Ala Thr His  
 180 185 190  
 Asp Phe Phe Asn Gly Ala Ser Tyr Leu Val Trp Met Tyr Gln His Met  
 195 200 205  
 Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Ile Ala Gly Ala Asp Pro Asp Val  
 210 215 220  
 Ser Thr Ser Glu Pro Asp Val Arg Arg Ile Lys Pro Asn Gln Lys Trp  
 225 230 235 240  
 Phe Val Asn His Ile Asn Gln His Met Phe Val Pro Phe Leu Tyr Gly  
 245 250 255  
 Leu Leu Ala Phe Lys Val Arg Ile Gln Asp Ile Asn Ile Leu Tyr Phe  
 260 265 270  
 Val Lys Thr Asn Asp Ala Ile Arg Val Asn Pro Ile Ser Thr Trp His  
 275 280 285  
 Thr Val Met Phe Trp Gly Gly Lys Ala Phe Phe Val Trp Tyr Arg Leu  
 290 295 300  
 Ile Val Pro Leu Gln Tyr Leu Pro Leu Gly Lys Val Leu Leu Leu Phe  
 305 310 315 320  
 Thr Val Ala Asp Met Val Ser Ser Tyr Trp Leu Ala Leu Thr Phe Gln  
 325 330 335

Ala Asn His Val Val Glu Glu Val Gln Trp Pro Leu Pro Asp Glu Asn  
340 345 350

Gly Ile Ile Gln Lys Asp Trp Ala Ala Met Gln Val Glu Thr Thr Gln  
355 360 365

Asp Tyr Ala His Asp Ser His Leu Trp Thr Ser Ile Thr Gly Ser Leu  
370 375 380

Asn Tyr Gln Ala Val His His Leu Phe Pro Asn Val Ser Gln His His  
385 390 395 400

Tyr Pro Asp Ile Leu Ala Ile Ile Lys Asn Thr Cys Ser Glu Tyr Lys  
405 410 415

Val Pro Tyr Leu Val Lys Asp Thr Phe Trp Gln Ala Phe Ala Ser His  
420 425 430

Leu Glu His Leu Arg Val Leu Gly Leu Arg Pro Lys Glu Glu  
435 440 445

<210> 15  
<211> 1344  
<212> DNA  
<213> Caenorhabditis elegans

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1344)  
<223> Delta-5-Desaturase

<400> 15 48  
atg gta tta cga gag caa gag cat gag cca ttc ttc att aaa att gat  
Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp  
1 5 10 15  
gga aaa tgg tgt caa att gac gat gct gtc ctg aga tca cat cca ggt 96  
Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly  
20 25 30  
ggt agt gca att act acc tat aaa aat atg gat gcc act acc gta ttc 144  
Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe  
35 40 45  
cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa 192  
His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu  
50 55 60  
ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag 240  
Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys  
65 70 75 80  
gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat 288  
Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn  
85 90 95  
att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta 336  
Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu



100	105	110	
cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe 115 120 125			384
tac att aga aaa att ctt gaa aca atc ttc aca att ctt ttt gca ttc Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe 130 135 140			432
tac ctt caa tac cac aca tat tat ctt cca tca gct att cta atg gga Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly 145 150 155 160			480
gtt gcg tgg caa caa ttg gga tgg tta atc cat gaa ttc gca cat cat Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His 165 170 175			528
cag ttg ttc aaa aac aga tac tac aat gat ttg gcc agc tat ttc gtt Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val 180 185 190			576
gga aac ttt tta caa gga ttc tca tct ggt ggt tgg aaa gag cag cac Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His 195 200 205			624
aat gtg cat cac gca gcc aca aat gtt gtt gga cga gac gga gat ctt Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu 210 215 220			672
gat tta gtc cca ttc tat gct aca gtg gca gaa cat ctc aac aat tat Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr 225 230 235 240			720
tct cag gat tca tgg gtt atg act cta ttc aga tgg caa cat gtt cat Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His 245 250 255			768
tgg aca ttc atg tta cca ttc ctc cgt ctc tgg tgg ctt ctt cag tca Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser 260 265 270			816
atc att ttt gtt agt cag atg cca act cat tat tat gac tat tac aga Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg 275 280 285			864
aat act gcg att tat gaa cag gtt ggt ctc tct ttg cac tgg gct tgg Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp 290 295 300			912
tca ttg ggt caa ttg tat ttc cta ccc gat tgg tca act aga ata atg Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met 305 310 315 320			960
ttc ttc ctt gtt tct cat ctt gtt gga ggt ttc ctg ctc tct cat gta Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val 325 330 335			1008
gtt act ttc aat cat tat tca gtg gag aag ttt gca ttg agc tgg aac Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn 340 345 350			1056
atc atg tca aat tac gct tgt ctt caa atc atg acc aca aga aat atg Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met 355 360 365			1104
aga cct gga aga ttc att gac tgg ctt tgg gga ggt ctt aac tat cag Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln			1152

```
<210> 16
<211> 447
<212> PRT
<213> Caenorhabditis elegans
```

<400> 16

Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp  
1 5 10 15

Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly  
20 25 30

Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe  
35 40 45

His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu  
50 55 60

Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys  
65 70 75 80

Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn  
85 90 95

Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu  
100 105 110

Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe  
115 120 125

Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe  
130 135 140

Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly  
145 150 155 160

Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His  
165 170 175

Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val  
 180 185 190

Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His  
 195 200 205

Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu  
 210 215 220

Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr  
 225 230 235 240

Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His  
 245 250 255

Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser  
 260 265 270

Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg  
 275 280 285

Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp  
 290 295 300

Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met  
 305 310 315 320

Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val  
 325 330 335

Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn  
 340 345 350

Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met  
 355 360 365

Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln  
 370 375 380

Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr  
 385 390 395 400

Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr  
 405 410 415

Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe  
 420 425 430

Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala  
 435 440 445

```
<220>
<221> CDS
<222> (42)..(1388)
<223> Delta-6-Desaturase
```

[illegible]

200	205	210	
tat ata cca ttc ctt gtt gtg tct tcc aag ttt ttt ggt tca ctc acc Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe Phe Gly Ser Leu Thr 215 220 225			728
tct cat ttc tat gag aaa agg ttg act ttt gac tct tta tca aga ttc Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp Ser Leu Ser Arg Phe 230 235 240 245			776
ttt gta agt tat caa cat tgg aca ttt tac cct att atg tgt gct gct Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro Ile Met Cys Ala Ala 250 255 260			824
agg ctc aat atg tat gta caa tct ctc ata atg ttg ttg acc aag aga Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met Leu Leu Thr Lys Arg 265 270 275			872
aat gtg tcc tat cga gct cag gaa ctc ttg gga tgc cta gtg ttc tcg Asn Val Ser Tyr Arg Ala Gln Glu Leu Leu Gly Cys Leu Val Phe Ser 280 285 290			920
att tgg tac ccg ttg ctt gtt tct tgt ttg cct aat tgg ggt gaa aga Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg 295 300 305			968
att atg ttt gtt att gca agt tta tca gtg act gga atg caa caa gtt Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr Gly Met Gln Gln Val 310 315 320 325			1016
cag ttc tcc ttg aac cac ttc tct tca agt gtt tat gtt gga aag cct Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Val Tyr Val Gly Lys Pro 330 335 340			1064
aaa ggg aat aat tgg ttt gag aaa caa acg gat ggg aca ctt gac att Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp Gly Thr Leu Asp Ile 345 350 355			1112
tct tgt cct cct tgg atg gat tgg ttt cat ggt gga ttg caa ttc caa Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln 360 365 370			1160
att gag cat cat ttg ttt ccc aag atg cct aga tgc aac ctt agg aaa Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg Cys Asn Leu Arg Lys 375 380 385			1208
atc tcg ccc tac gtg atc gag tta tgc aag aaa cat aat ttg cct tac Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr 390 395 400 405			1256
aat tat gca tct ttc tcc aag gcc aat gaa atg aca ctc aga aca ttg Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met Thr Leu Arg Thr Leu 410 415 420			1304
agg aac aca gca ttg cag gct agg gat ata acc aag ccg ctc ccg aag Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr Lys Pro Leu Pro Lys 425 430 435			1352
aat ttg gta tgg gaa gct ctt cac act cat ggt taa aattaccctt Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly 440 445			1398
agttcatgta ataatttgag aattatgtatc tcctatgttt gtgtcttgtc ttggttctac			1458
ttgttgaggat cattgcaact tgtcttttat gggtttattag atgtttttta atatatttta			1518
gaggttttgc tttcatctcc attattgatg aataaggagt tgcataattgt caattgttgt			1578

gctcaatatc tgatattttg gaatgtactt tgtaccactg tgttttcagt tgaagctcat 1638  
 gtgtacttct atagactttg tttaaatggg tatgtcatgt tattt 1683

<210> 18  
 <211> 448  
 <212> PRT  
 <213> *Borago officinalis*

<400> 18

Met Ala Ala Gln Ile Lys Lys Tyr Ile Thr Ser Asp Glu Leu Lys Asn  
 1 5 10 15

His Asp Lys Pro Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr  
 20 25 30

Asp Val Ser Asp Trp Val Lys Asp His Pro Gly Gly Ser Phe Pro Leu  
 35 40 45

Lys Ser Leu Ala Gly Gln Glu Val Thr Asp Ala Phe Val Ala Phe His  
 50 55 60

Pro Ala Ser Thr Trp Lys Asn Leu Asp Lys Phe Phe Thr Gly Tyr Tyr  
 65 70 75 80

Leu Lys Asp Tyr Ser Val Ser Glu Val Ser Lys Asp Tyr Arg Lys Leu  
 85 90 95

Val Phe Glu Phe Ser Lys Met Gly Leu Tyr Asp Lys Lys Gly His Ile  
 100 105 110

Met Phe Ala Thr Leu Cys Phe Ile Ala Met Leu Phe Ala Met Ser Val  
 115 120 125

Tyr Gly Val Leu Phe Cys Glu Gly Val Leu Val His Leu Phe Ser Gly  
 130 135 140

Cys Leu Met Gly Phe Leu Trp Ile Gln Ser Gly Trp Ile Gly His Asp  
 145 150 155 160

Ala Gly His Tyr Met Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met  
 165 170 175

Gly Ile Phe Ala Ala Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp  
 180 185 190

Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr  
 195 200 205

Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe  
 210 215 220

## 32

Phe Gly Ser Leu Thr Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp  
 225 230 235 240

Ser Leu Ser Arg Phe Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro  
 245 250 255

Ile Met Cys Ala Ala Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met  
 260 265 270

Leu Leu Thr Lys Arg Asn Val Ser Tyr Arg Ala Gln Glu Leu Leu Gly  
 275 280 285

Cys Leu Val Phe Ser Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro  
 290 295 300

Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr  
 305 310 315 320

Gly Met Gln Gln Val Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Ser Val  
 325 330 335

Tyr Val Gly Lys Pro Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp  
 340 345 350

Gly Thr Leu Asp Ile Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly  
 355 360 365

Gly Leu Gln Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg  
 370 375 380

Cys Asn Leu Arg Lys Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys  
 385 390 395 400

His Asn Leu Pro Tyr Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met  
 405 410 415

Thr Leu Arg Thr Leu Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr  
 420 425 430

Lys Pro Leu Pro Lys Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly  
 435 440 445

<210> 19  
 <211> 1563  
 <212> DNA  
 <213> Ceratodon purpureus

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1563)  
 <223> Delta-6-Desaturase

<400> 19

WO 2005/012316

33

atg gtg tcc cag ggc ggc ggt ctc tcg cag ggt tcc att gaa gaa aac Met Val Ser Gln Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn 1 5 10 15	48
att gac gtt gag cac ttg gca acg atg ccc ctc gtc agt gac ttc cta Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu 20 25 30	96
aat gtc ctg gga acg act ttg ggc cag tgg agt ctt tcc act aca ttc Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe 35 40 45	144
gct ttc aag agg ctc acg act aag aaa cac agt tcg gac atc tcg gtg Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val 50 55 60	192
gag gca caa aaa gaa tcg gtt gcg cgg ggg cca gtt gag aat att tct Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser 65 70 75 80	240
caa tcg gtt gcg cag ccc atc agg cgg agg tgg gtg cag gat aaa aag Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys 85 90 95	288
ccg gtt act tac agc ctg aag gat gta gct tcg cac gat atg ccc cag Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln 100 105 110	336
gac tgc tgg att ata atc aaa gag aag gtg tat gat gtg agc acc ttc Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe 115 120 125	384
gct gag cag cac cct gga ggc acg gtt atc aac acc tac ttc gga cga Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg 130 135 140	432
gac gcc aca gat gtt ttc tct act ttc cac gca tcc acc tca tgg aag Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys 145 150 155 160	480
att ctt cag aat ttc tac atc ggg aac ctt gtt agg gag gag ccg act Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr 165 170 175	528
ttg gag ctg ctg aag gag tac aga gag ttg aga gcc ctt ttc ttg aga Leu Glu Leu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg 180 185 190	576
gaa cag ctt ttc aag agt tcc aaa tcc tac tac ctt ttc aag act ctc Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu 195 200 205	624
ata aat gtt tcc att gtt gcc aca agc att gcg ata atc agt ctg tac Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr 210 215 220	672
aag tct tac cgg gcg gtt ctg tta tca gcc agt ttg atg ggc ttg ttt Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe 225 230 235 240	720
att caa cag tgc gga tgg ttg tct cac gat ttt cta cac cat cag gta Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val 245 250 255	768
ttt gag aca cgc tgg ctc aat gac gtt gtt ggc tat gtg gtc ggc aac Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn 260 265 270	816



## 34

gtt gtt ctg gga ttc agt gtc tcg tgg tgg aag acc aag cac aac ctg	864
Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu	
275 280 285	
cat cat gct gct ccg aat gaa tgc gac caa aag tac aca ccg att gat	912
His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp	
290 295 300	
gag gat att gat act ctc ccc atc att gct tgg agt aaa gat ctc ttg	960
Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu	
305 310 315 320	
gcc act gtt gag agc aag acc atg ttg cga gtt ctt cag tac cag cac	1008
Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His	
325 330 335	
cta ttc ttt ttg gtt ctt ttg acg ttt gcc cgg gcg agt tgg cta ttt	1056
Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe	
340 345 350	
tgg agc gcg gcc ttc act ctc agg ccc gag ttg acc ctt ggc gag aag	1104
Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys	
355 360 365	
ctt ttg gag agg gga acg atg gct ttg cac tac att tgg ttt aat agt	1152
Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser	
370 375 380	
gtt gcg ttt tat ctg ctc ccc gga tgg aaa cca gtt gta tgg atg gtg	1200
Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val	
385 390 395 400	
gtc agc gag ctc atg tct ggt ttc ctg ctg gga tac gta ttt gta ctc	1248
Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu	
405 410 415	
agt cac aat gga atg gag gtg tac aat acg tca aag gac ttc gtg aat	1296
Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn	
420 425 430	
gcc cag att gca tcg act cgc gac atc aaa gca ggg gtg ttt aat gat	1344
Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp	
435 440 445	
tgg ttc acc gga ggt ctc aac aga cag att gag cat cat cta ttt cca	1392
Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro	
450 455 460	
acg atg ccc agg cac aac ctt aat aaa att tct cct cac gtg gag act	1440
Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr	
465 470 475 480	
ttg tgc aag aag cat gga ctg gtc tac gaa gac gtg agc atg gct tcg	1488
Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser	
485 490 495	
ggc act tac ccg gtt ttg aaa aca ctt aag gac gtt gcc gat gct gct	1536
Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala	
500 505 510	
tca cac cag cag ctt gct gcg agt tga	1563
Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser	
515 520	

<210> 20  
 <211> 520  
 <212> PRT

&lt;213&gt; Ceratodon purpureus

&lt;400&gt; 20

Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn  
 1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu  
 20 25 30

Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe  
 35 40 45

Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val  
 50 55 60

Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser  
 65 70 75 80

Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys  
 85 90 95

Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln  
 100 105 110

Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe  
 115 120 125

Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg  
 130 135 140

Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys  
 145 150 155 160

Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr  
 165 170 175

Leu Glu Leu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg  
 180 185 190

Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu  
 195 200 205

Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr  
 210 215 220

Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe  
 225 230 235 240

Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val  
 245 250 255

36

Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn  
260 265 270

Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu  
275 280 285

His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp  
290 295 300

Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu  
305 310 315 320

Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His  
325 330 335

Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe  
340 345 350

Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys  
355 360 365

Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser  
370 375 380

Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val  
385 390 395 400

Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu  
405 410 415

Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn  
420 425 430

Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp  
435 440 445

Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro  
450 455 460

Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr  
465 470 475 480

Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser  
485 490 495

Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala  
500 505 510

Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser  
515 520

<210> 21  
 <211> 1434  
 <212> DNA  
 <213> *Phaeodactylum tricornutum*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1434)  
 <223> Delta-6-Desaturase

<400> 21  
 atg ggc aaa gga ggg gac gct cgg gcc tcg aag ggc tca acg gcg gct 48  
 Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala  
 1 5 10 15  
 cgc aag atc agt tgg cag gaa gtc aag acc cac gcg tct ccg gag gac 96  
 Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp  
 20 25 30  
 gcc tgg atc att cac tcc aat aag gtc tac gac gtg tcc aac tgg cac 144  
 Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His  
 35 40 45  
 gaa cat ccc gga ggc gcc gtc att ttc acg cac gcc ggt gac gac atg 192  
 Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met  
 50 55 60  
 acg gac att ttc gct gcc ttt cac gca ccc gga tcg cag tcg ctc atg 240  
 Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met  
 65 70 75 80  
 aag aag ttc tac att ggc gaa ttg ctc ccg gaa acc acc ggc aag gag 288  
 Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu  
 85 90 95  
 ccg cag caa atc gcc ttt gaa aag ggc tac cgc gat ctg cgc tcc aaa 336  
 Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys  
 100 105 110  
 ctc atc atg atg ggc atg ttc aag tcc aac aag tgg ttc tac gtc tac 384  
 Leu Ile Met Met Gly Met Phe Lys Ser Asn Lys Trp Phe Tyr Val Tyr  
 115 120 125  
 aag tgc ctc agc aac atg gcc att tgg gcc gcc gcc tgt gct ctc gtc 432  
 Lys Cys Leu Ser Asn Met Ala Ile Trp Ala Ala Cys Ala Leu Val  
 130 135 140  
 ttt tac tcg gac cgc ttc tgg gta cac ctg gcc agc gcc gtc atg ctg 480  
 Phe Tyr Ser Asp Arg Phe Trp Val His Leu Ala Ser Ala Val Met Leu  
 145 150 155 160  
 gga aca ttc ttt cag cag tcg gga tgg ttg gca cac gac ttt ctg cac 528  
 Gly Thr Phe Phe Gln Gln Ser Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His  
 165 170 175  
 cac cag gtc ttc acc aag cgc aag cac ggg gat ctc gga gga ctc ttt 576  
 His Gln Val Phe Thr Lys Arg Lys His Gly Asp Leu Gly Gly Leu Phe  
 180 185 190  
 tgg ggg aac ctc atg cag ggt tac tcc gta cag tgg tgg aaa aac aag 624  
 Trp Gly Asn Leu Met Gln Gly Tyr Ser Val Gln Trp Trp Lys Asn Lys  
 195 200 205  
 cac aac gga cac cac gcc gtc ccc aac ctc cac tgc tcc tcc gca gtc 672  
 His Asn Gly His His Ala Val Pro Asn Leu His Cys Ser Ser Ala Val  
 210 215 220

## 38

gcg caa gat ggg gac ccg gac atc gat acc atg ccc ctt ctc gcc tgg 720  
 Ala Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp  
 225 230 235 240

tcc gtc cag caa gcc cag tct tac cgg gaa ctc caa gcc gac gga aag 768  
 Ser Val Gln Gln Ala Gln Ser Tyr Arg Glu Leu Gln Ala Asp Gly Lys  
 245 250 255

gat tcg ggt ttg gtc aag ttc atg atc cgt aac caa tcc tac ttt tac 816  
 Asp Ser Gly Leu Val Lys Phe Met Ile Arg Asn Gln Ser Tyr Phe Tyr  
 260 265 270

ttt ccc atc ttg ttg ctc gcc cgc ctg tcg tgg ttg aac gag tcc ttc 864  
 Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe  
 275 280 285

aag tgc gcc ttt ggg ctt gga gct gcg tcg gag aac gct gct ctc gaa 912  
 Lys Cys Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala Ser Glu Asn Ala Ala Leu Glu  
 290 295 300

ctc aag gcc aag ggt ctt cag tac ccc ctt ttg gaa aag gct ggc atc 960  
 Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile  
 305 310 315 320

ctg ctg cac tac gct tgg atg ctt aca gtt tcg tcc ggc ttt gga cgc 1008  
 Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg  
 325 330 335

ttc tcg ttc gcg tac acc gca ttt tac ttt cta acc gcg acc gcg tcc 1056  
 Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser  
 340 345 350

tgt gga ttc ttg ctc gcc att gtc ttt ggc ctc ggc cac aac ggc atg 1104  
 Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met  
 355 360 365

gcc acc tac aat gcc gac gcc cgt ccg gac ttc tgg aag ctc caa gtc 1152  
 Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val  
 370 375 380

acc acg act cgc aac gtc acg ggc gga cac ggt ttc ccc caa gcc ttt 1200  
 Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe  
 385 390 395 400

gtc gac tgg ttc tgt ggt ggc ctc cag tac caa gtc gac cac cac tta 1248  
 Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu  
 405 410 415

ttc ccc agc ctg ccc cga cac aat ctg gcc aag aca cac gca ctg gtc 1296  
 Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val  
 420 425 430

gaa tcg ttc tgc aag gag tgg ggt gtc cag tac cac gaa gcc gac ctt 1344  
 Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu  
 435 440 445

gtg gac ggg acc atg gaa gtc ttg cac cat ttg ggc agc gtg gcc ggc 1392  
 Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly  
 450 455 460

gaa ttc gtc gtg gat ttt gta cgc gat gga ccc gcc atg taa 1434  
 Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met  
 465 470 475

<210> 22  
 <211> 477  
 <212> PRT

&lt;213&gt; Phaeodactylum tricornutum

&lt;400&gt; 22

Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala  
 1 5 10 15

Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp  
 20 25 30

Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His  
 35 40 45

Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met  
 50 55 60

Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met  
 65 70 75 80

Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu  
 85 90 95

Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys  
 100 105 110

Leu Ile Met Met Gly Met Phe Lys Ser Asn Lys Trp Phe Tyr Val Tyr  
 115 120 125

Lys Cys Leu Ser Asn Met Ala Ile Trp Ala Ala Cys Ala Leu Val  
 130 135 140

Phe Tyr Ser Asp Arg Phe Trp Val His Leu Ala Ser Ala Val Met Leu  
 145 150 155 160

Gly Thr Phe Phe Gln Gln Ser Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His  
 165 170 175

His Gln Val Phe Thr Lys Arg Lys His Gly Asp Leu Gly Gly Leu Phe  
 180 185 190

Trp Gly Asn Leu Met Gln Gly Tyr Ser Val Gln Trp Trp Lys Asn Lys  
 195 200 205

His Asn Gly His His Ala Val Pro Asn Leu His Cys Ser Ser Ala Val  
 210 215 220

Ala Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp  
 225 230 235 240

Ser Val Gln Gln Ala Gln Ser Tyr Arg Glu Leu Gln Ala Asp Gly Lys  
 245 250 255

## 40

Asp Ser Gly Leu Val Lys Phe Met Ile Arg Asn Gln Ser Tyr Phe Tyr  
 260 265 270  
 Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe  
 275 280 285  
 Lys Cys Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala Ser Glu Asn Ala Ala Leu Glu  
 290 295 300  
 Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile  
 305 310 315 320  
 Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg  
 325 330 335  
 Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser  
 340 345 350  
 Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met  
 355 360 365  
 Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val  
 370 375 380  
 Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe  
 385 390 395 400  
 Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu  
 405 410 415  
 Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val  
 420 425 430  
 Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu  
 435 440 445  
 Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly  
 450 455 460  
 Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met  
 465 470 475

<210> 23  
 <211> 1578  
 <212> DNA  
 <213> *Physcomitrella patens*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1578)  
 <223> Delta-6-Desaturase

<400> 23

atg gta ttc gcg ggc ggt gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn 1 5 10 15	48
atc gac gtc gag cac att gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe 20 25 30	96
agt tat gtg tct tca act gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln 35 40 45	144
cct ttg aag cgc ctg acg agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala 50 55 60	192
gtg caa tgt ata tca gct gaa gtt cag aga aat tcg agt acc cag gga Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly 65 70 75 80	240
act gcg gag gca ctc gca gaa tca gtc gtg aag ccc acg aga cga agg Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg 85 90 95	288
tca tct cag tgg aag aag tcg aca cac ccc cta tca gaa gta gca gta Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val 100 105 110	336
cac aac aag cca agc gat tgc tgg att gtt gta aaa aac aag gtg tat His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr 115 120 125	384
gat gtt tcc aat ttt gcg gac gag cat ccc gga gga tca gtt att agt Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser 130 135 140	432
act tat ttt gga cga gac ggc aca gat gtt ttc tct agt ttt cat gca Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala 145 150 155 160	480
gct tct aca tgg aaa att ctt caa gac ttt tac att ggt gac gtg gag Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 165 170 175	528
agg gtg gag ccg act cca gag ctg ctg aaa gat ttc cga gaa atg aga Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 180 185 190	576
gct ctt ttc ctg agg gag caa ctt ttc aaa agt tcg aaa ttg tac tat Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr 195 200 205	624
gtt atg aag ctg ctc acg aat gtt gct att ttt gct gcg agc att gca Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala 210 215 220	672
ata ata tgt tgg agc aag act att tca gcg gtt ttg gct tca gct tgt Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys 225 230 235 240	720
atg atg gct ctg tgt ttc caa cag tgc gga tgg cta tcc cat gat ttt Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe 245 250 255	768
ctc cac aat cag gtg ttt gag aca cgc tgg ctt aat gaa gtt gtc ggg Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly 260 265 270	816



42

tat gtg atc ggc aac gcc gtt ctg ggg ttt agt aca ggg tgg tgg aag Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys 275 280 285	864
gag aag cat aac ctt cat cat gct gct cca aat gaa tgc gat cag act Glu Lys His Asn Leu His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr 290 295 300	912
tac caa cca att gat gaa gat att gat act ctc ccc ctc att gcc tgg Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp 305 310 315 320	960
agc aag gac ata ctg gcc aca gtt gag aat aag aca ttc ttg cga atc Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile 325 330 335	1008
ctc caa tac cag cat ctg ttc ttc atg ggt ctg tta ttt ttc gcc cgt Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg 340 345 350	1056
ggg agt tgg ctc ttt tgg agc tgg aga tat acc tct aca gca gtg ctc Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu 355 360 365	1104
tca cct gtc gac agg ttg ttg gag aag gga act gtt ctg ttt cac tac Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr 370 375 380	1152
ttt tgg ttc gtc ggg aca gcg tgc tat ctt ctc cct ggt tgg aag cca Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro 385 390 395 400	1200
tta gta tgg atg gcg gtg act gag ctc atg tcc ggc atg ctg ctg ggc Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly 405 410 415	1248
ttt gta ttt gta ctt agc cac aat ggg atg gag gtt tat aat tgc tct Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser 420 425 430	1296
aaa gaa ttc gtg agt gca cag atc gta tcc aca cgg gat atc aaa gga Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly 435 440 445	1344
aac ata ttc aac gac tgg ttc act ggt ggc ctt aac agg caa ata gag Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu 450 455 460	1392
cat cat ctt ttc cca aca atg ccc agg cat aat tta aac aaa ata gca His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 465 470 475 480	1440
cct aga gtg gag gtg ttc tgt aag aaa cac ggt ctg gtg tac gaa gac Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp 485 490 495	1488
gta tct att gct acc ggc act tgc aag gtt ttg aaa gca ttg aag gaa Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu 500 505 510	1536
gtc gcg gag gct gcg gca gag cag cat gct acc acc agt taa Val Ala Glu Ala Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser 515 520 525	1578
<210> 24	
<211> 525	
<212> PRT	

&lt;213&gt; Physcomitrella patens

&lt;400&gt; 24

Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn  
 1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe  
 20 25 30

Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln  
 35 40 45

Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala  
 50 55 60

Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly  
 65 70 75 80

Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg  
 85 90 95

Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val  
 100 105 110

His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr  
 115 120 125

Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser  
 130 135 140

Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala  
 145 150 155 160

Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu  
 165 170 175

Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg  
 180 185 190

Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr  
 195 200 205

Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala  
 210 215 220

Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys  
 225 230 235 240

Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe  
 245 250 255

44

Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly  
 260 265 270

Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys  
 275 280 285

Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr  
 290 295 300

Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp  
 305 310 315 320

Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile  
 325 330 335

Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg  
 340 345 350

Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu  
 355 360 365

Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr  
 370 375 380

Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro  
 385 390 395 400

Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly  
 405 410 415

Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser  
 420 425 430

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly  
 435 440 445

Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu  
 450 455 460

His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala  
 465 470 475 480

Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp  
 485 490 495

Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu  
 500 505 510

Val Ala Glu Ala Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser  
 515 520 525

WO 2005/012316

45

<210> 25  
 <211> 1332  
 <212> DNA  
 <213> Caenorhabditis elegans

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1332)  
 <223> Delta-6-Desaturase

<400> 25  
 atg gtc gtc gac aag aat gcc tcc ggg ctt cga atg aag gtc gat ggc 48  
 Met Val Val Asp Lys Asn Ala Ser Gly Leu Arg Met Lys Val Asp Gly  
 1 5 10 15  
 aaa tgg ctc tac ctt agc gag gaa ttg gtg aag aaa cat cca gga gga 96  
 Lys Trp Leu Tyr Leu Ser Glu Glu Leu Val Lys Lys His Pro Gly Gly  
 20 25 30  
 gct gtt att gaa caa tat aga aat tgc gat gct act cat att ttc cac 144  
 Ala Val Ile Glu Gln Tyr Arg Asn Ser Asp Ala Thr His Ile Phe His  
 35 40 45  
 gct ttc cac gaa gga tct tct cag gct tat aag caa ctt gac ctt ctg 192  
 Ala Phe His Glu Gly Ser Ser Gln Ala Tyr Lys Gln Leu Asp Leu Leu  
 50 55 60  
 aaa aag cac gga gag cac gat gaa ttc ctt gag aaa caa ttg gaa aag 240  
 Lys Lys His Gly Glu His Asp Glu Phe Leu Glu Lys Gln Leu Glu Lys  
 65 70 75 80  
 aga ctt gac aaa gtt gat atc aat gta tca gca tat gat gtc agt gtt 288  
 Arg Leu Asp Lys Val Asp Ile Asn Val Ser Ala Tyr Asp Val Ser Val  
 85 90 95  
 gca caa gaa aag aaa atg gtt gaa tca ttc gaa aaa cta cga cag aag 336  
 Ala Gln Glu Lys Lys Met Val Glu Ser Phe Glu Lys Leu Arg Gln Lys  
 100 105 110  
 ctt cat gat gat gga tta atg aaa gca aat gaa aca tat ttc ctg ttt 384  
 Leu His Asp Asp Gly Leu Met Lys Ala Asn Glu Thr Tyr Phe Leu Phe  
 115 120 125  
 aaa gcg att tca aca ctt tca att atg gca ttt gca ttt tat ctt cag 432  
 Lys Ala Ile Ser Thr Leu Ser Ile Met Ala Phe Ala Phe Tyr Leu Gln  
 130 135 140  
 tat ctt gga tgg tat att act tct gca tgt tta tta gca ctt gca tgg 480  
 Tyr Leu Gly Trp Tyr Ile Thr Ser Ala Cys Leu Leu Ala Leu Ala Trp  
 145 150 155 160  
 caa caa ttc gga tgg tta aca cat gag ttc tgc cat caa cag cca aca 528  
 Gln Gln Phe Gly Trp Leu Thr His Glu Phe Cys His Gln Gln Pro Thr  
 165 170 175  
 aag aac aga cct ttg aat gat act att tct ttg ttc ttt ggt aat ttc 576  
 Lys Asn Arg Pro Leu Asn Asp Thr Ile Ser Leu Phe Phe Gly Asn Phe  
 180 185 190  
 tta caa gga ttt tca aga gat tgg tgg aag gac aag cat aac act cat 624  
 Leu Gln Gly Phe Ser Arg Asp Trp Trp Lys Asp Lys His Asn Thr His  
 195 200 205  
 cac gct gcc aca aat gta att gat cat gac ggt gat atc gac ttg gca 672  
 His Ala Ala Thr Asn Val Ile Asp His Asp Gly Asp Ile Asp Leu Ala  
 210 215 220

## 46

cca ctt ttc gca ttt att cca gga gat ttg tgc aag tat aag gcc agc 720  
 Pro Leu Phe Ala Phe Ile Pro Gly Asp Leu Cys Lys Tyr Lys Ala Ser  
 225 230 235 240

ttt gaa aaa gca att ctc aag att gta cca tat caa cat ctc tat ttc 768  
 Phe Glu Lys Ala Ile Leu Lys Ile Val Pro Tyr Gln His Leu Tyr Phe  
 245 250 255

acc gca atg ctt cca atg ctc cgt ttc tca tgg act ggt cag tca gtt 816  
 Thr Ala Met Leu Pro Met Leu Arg Phe Ser Trp Thr Gly Gln Ser Val  
 260 265 270

caa tgg gta ttc aaa gag aat caa atg gag tac aag gtc tat caa aga 864  
 Gln Trp Val Phe Lys Glu Asn Gln Met Glu Tyr Lys Val Tyr Gln Arg  
 275 280 285

aat gca ttc tgg gag caa gca aca att gtt gga cat tgg gct tgg gta 912  
 Asn Ala Phe Trp Glu Gln Ala Thr Ile Val Gly His Trp Ala Trp Val  
 290 295 300

ttc tat caa ttg ttc tta tta cca aca tgg cca ctt cgg gtt gct tat 960  
 Phe Tyr Gln Leu Phe Leu Leu Pro Thr Trp Pro Leu Arg Val Ala Tyr  
 305 310 315 320

ttc att att tca caa atg gga gga ggc ctt ttg att gct cac gta gtc 1008  
 Phe Ile Ile Ser Gln Met Gly Gly Leu Leu Ile Ala His Val Val  
 325 330 335

act ttc aac cat aac tct gtt gat aag tat cca gcc aat tct cga att 1056  
 Thr Phe Asn His Asn Ser Val Asp Lys Tyr Pro Ala Asn Ser Arg Ile  
 340 345 350

tta aac aac ttc gcc gct ctt caa att ttg acc aca cgc aac atg act 1104  
 Leu Asn Asn Phe Ala Ala Leu Gln Ile Leu Thr Thr Arg Asn Met Thr  
 355 360 365

cca tct cca ttc att gat tgg ctt tgg ggt gga ctc aat tat cag atc 1152  
 Pro Ser Pro Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile  
 370 375 380

gag cac cac ttg ttc cca aca atg cca cgt tgc aat ctg aat gct tgc 1200  
 Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg Cys Asn Leu Asn Ala Cys  
 385 390 395 400

gtg aaa tat gtg aaa gaa tgg tgc aaa gag aat aat ctt cct tac ctc 1248  
 Val Lys Tyr Val Lys Glu Trp Cys Lys Glu Asn Asn Leu Pro Tyr Leu  
 405 410 415

gtc gat gac tac ttt gac gga tat gca atg aat ttg caa caa ttg aaa 1296  
 Val Asp Asp Tyr Phe Asp Gly Tyr Ala Met Asn Leu Gln Gln Leu Lys  
 420 425 430

aat atg gct gag cac att caa gct aaa gct gcc taa 1332  
 Asn Met Ala Glu His Ile Gln Ala Lys Ala Ala  
 435 440

<210> 26  
 <211> 443  
 <212> PRT  
 <213> Caenorhabditis elegans

<400> 26

Met Val Val Asp Lys Asn Ala Ser Gly Leu Arg Met Lys Val Asp Gly  
 1 5 10 15

Lys Trp Leu Tyr Leu Ser Glu Glu Leu Val Lys Lys His Pro Gly Gly  
 20 25 30

Ala Val Ile Glu Gln Tyr Arg Asn Ser Asp Ala Thr His Ile Phe His  
 35 40 45

Ala Phe His Glu Gly Ser Ser Gln Ala Tyr Lys Gln Leu Asp Leu Leu  
 50 55 60

Lys Lys His Gly Glu His Asp Glu Phe Leu Glu Lys Gln Leu Glu Lys  
 65 70 75 80

Arg Leu Asp Lys Val Asp Ile Asn Val Ser Ala Tyr Asp Val Ser Val  
 85 90 95

Ala Gln Glu Lys Lys Met Val Glu Ser Phe Glu Lys Leu Arg Gln Lys  
 100 105 110

Leu His Asp Asp Gly Leu Met Lys Ala Asn Glu Thr Tyr Phe Leu Phe  
 115 120 125

Lys Ala Ile Ser Thr Leu Ser Ile Met Ala Phe Ala Phe Tyr Leu Gln  
 130 135 140

Tyr Leu Gly Trp Tyr Ile Thr Ser Ala Cys Leu Leu Ala Leu Ala Trp  
 145 150 155 160

Gln Gln Phe Gly Trp Leu Thr His Glu Phe Cys His Gln Gln Pro Thr  
 165 170 175

Lys Asn Arg Pro Leu Asn Asp Thr Ile Ser Leu Phe Phe Gly Asn Phe  
 180 185 190

Leu Gln Gly Phe Ser Arg Asp Trp Trp Lys Asp Lys His Asn Thr His  
 195 200 205

His Ala Ala Thr Asn Val Ile Asp His Asp Gly Asp Ile Asp Leu Ala  
 210 215 220

Pro Leu Phe Ala Phe Ile Pro Gly Asp Leu Cys Lys Tyr Lys Ala Ser  
 225 230 235 240

Phe Glu Lys Ala Ile Leu Lys Ile Val Pro Tyr Gln His Leu Tyr Phe  
 245 250 255

Thr Ala Met Leu Pro Met Leu Arg Phe Ser Trp Thr Gly Gln Ser Val  
 260 265 270

Gln Trp Val Phe Lys Glu Asn Gln Met Glu Tyr Lys Val Tyr Gln Arg  
 275 280 285

## 48

Asn Ala Phe Trp Glu Gln Ala Thr Ile Val Gly His Trp Ala Trp Val  
290 295 300

Phe Tyr Gln Leu Phe Leu Leu Pro Thr Trp Pro Leu Arg Val Ala Tyr  
305 310 315 320

Phe Ile Ile Ser Gln Met Gly Gly Gly Leu Leu Ile Ala His Val Val  
325 330 335

Thr Phe Asn His Asn Ser Val Asp Lys Tyr Pro Ala Asn Ser Arg Ile  
340 345 350

Leu Asn Asn Phe Ala Ala Leu Gln Ile Leu Thr Thr Arg Asn Met Thr  
355 360 365

Pro Ser Pro Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile  
370 375 380

Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg Cys Asn Leu Asn Ala Cys  
385 390 395 400

Val Lys Tyr Val Lys Glu Trp Cys Lys Glu Asn Asn Leu Pro Tyr Leu  
405 410 415

Val Asp Asp Tyr Phe Asp Gly Tyr Ala Met Asn Leu Gln Gln Leu Lys  
420 425 430

Asn Met Ala Glu His Ile Gln Ala Lys Ala Ala  
435 440

<210> 27  
<211> 873  
<212> DNA  
<213> Physcomitrella patens

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(873)  
<223> Delta-6-Elongase

<400> 27  
atg gag gtc gtg gag aga ttc tac ggt gag ttg gat ggg aag gtc tcg 48  
Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser  
1 5 10 15  
cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt ggg gtg gag ttg acg gat 96  
Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp  
20 25 30  
acg ccc act acc aaa ggc ttg ccc ctc gtt gac agt ccc aca ccc atc 144  
Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile  
35 40 45  
gtc ctc ggt gtt tct gta tac ttg act att gtc att gga ggg ctt ttg 192  
Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu  
50 55 60

## 49

tgg ata aag gcc agg gat ctg aaa ccg cgc gcc tcg gag cca ttt ttg 240  
 Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu  
 65 70 75 80  
 ctc caa gct ttg gtg ctt gtg cac aac ctg ttc tgt ttt gcg ctc agt 288  
 Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser  
 85 90 95  
 ctg tat atg tgc gtg ggc atc gct tat cag gct att acc tgg cgg tac 336  
 Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr  
 100 105 110  
 tct ctc tgg ggc aat gca tac aat cct aaa cat aaa gag atg gcg att 384  
 Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile  
 115 120 125  
 ctg gta tac ttg ttc tac atg tct aag tac gtg gaa ttc atg gat acc 432  
 Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr  
 130 135 140  
 gtt atc atg ata ctg aag cgc agc acc agg caa ata agc ttc ctc cac 480  
 Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His  
 145 150 155 160  
 gtt tat cat cat tct tca att tcc ctc att tgg tgg gct att gct cat 528  
 Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His  
 165 170 175  
 cac gct cct ggc ggt gaa gca tat tgg tct gcg gct ctg aac tca gga 576  
 His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly  
 180 185 190  
 gtg cat gtt ctc atg tat gcg tat tac ttc ttg gct gcc tgc ctt cga 624  
 Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg  
 195 200 205  
 agt agc cca aag tta aaa aat aag tac ctt ttt tgg ggc agg tac ttg 672  
 Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu  
 210 215 220  
 aca caa ttc caa atg ttc cag ttt atg ctg aac tta gtg cag gct tac 720  
 Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr  
 225 230 235 240  
 tac gac atg aaa acg aat gcg cca tat cca caa tgg ctg atc aag att 768  
 Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile  
 245 250 255  
 ttg ttc tac tac atg atc tcg ttg ctg ttt ctt ttc ggc aat ttt tac 816  
 Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr  
 260 265 270  
 gta caa aaa tac atc aaa ccc tct gac gga aag caa aag gga gct aaa 864  
 Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys  
 275 280 285  
 act gag tga 873  
 Thr Glu  
 290

<210> 28  
 <211> 290  
 <212> PRT  
 <213> Physcomitrella patens  
 <400> 28



## 50

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser  
 1 5 10 15  
 Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp  
 20 25 30  
 Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile  
 35 40 45  
 Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu  
 50 55 60  
 Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser  
 85 90 95  
 Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr  
 100 105 110  
 Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile  
 115 120 125  
 Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr  
 130 135 140  
 Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His  
 145 150 155 160  
 Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His  
 165 170 175  
 His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly  
 180 185 190  
 Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg  
 195 200 205  
 Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu  
 210 215 220  
 Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr  
 225 230 235 240  
 Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile  
 245 250 255  
 Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr  
 260 265 270

Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys  
 275 280 285

Thr Glu  
 290

<210> 29  
 <211> 1049  
 <212> DNA  
 <213> Thraustochytrium

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (43)..(858)  
 <223> Delta-6-Elongase

<400> 29  
 gaattcggca cgagagcgcg cggagcggag acctcggccg cg atg atg gag ccg 54  
 Met Met Glu Pro  
 1

ctc gac agg tac agg gcg ctg gcg gag ctc gcc gcg agg tac gcc agc 102  
 Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala Arg Tyr Ala Ser  
 5 10 15 20

tcg gcg gcc ttc aag tgg caa gtc acg tac gac gcc aag gac agc ttc 150  
 Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala Lys Asp Ser Phe  
 25 30 35

gtc ggg ccc ctg gga atc cgg gag ccg ctc ggg ctc ctg gtg ggc tcc 198  
 Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu Leu Val Gly Ser  
 40 45 50

gtg gtc ctc tac ctg agc ctg ctg gcc gtg gtc tac gcg ctg cgg aac 246  
 Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr Ala Leu Arg Asn  
 55 60 65

tac ctt ggc ggc ctc atg gcg ctc cgc agc gtg cat aac ctc ggg ctc 294  
 Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His Asn Leu Gly Leu  
 70 75 80

tgc ctc ttc tcg ggc gcc gtg tgg atc tac acg agc tac ctc atg atc 342  
 Cys Leu Phe Ser Gly Ala Val Trp Ile Tyr Thr Ser Tyr Leu Met Ile  
 85 90 95 100

cag gat ggg cac ttt cgc agc ctc gag gcg gca acg tgc gag ccg ctc 390  
 Gln Asp Gly His Phe Arg Ser Leu Glu Ala Ala Thr Cys Glu Pro Leu  
 105 110 115

aag cat ccg cac ttc cag ctc atc agc ttg ctc ttt gcg ctg tcc aag 438  
 Lys His Pro His Phe Gln Leu Ile Ser Leu Leu Phe Ala Leu Ser Lys  
 120 125 130

atc tgg gag tgg ttc gac acg gtg ctc ctc atc gtc aag ggc aac aag 486  
 Ile Trp Glu Trp Phe Asp Thr Val Leu Leu Ile Val Lys Gly Asn Lys  
 135 140 145

ctc cgc ttc ctg cac gtc ttg cac cac gcc acg acc ttt tgg ctc tac 534  
 Leu Arg Phe Leu His Val Leu His His Ala Thr Thr Phe Trp Leu Tyr  
 150 155 160

gcc atc gac cac atc ttt ctc tcg tcc atc aag tac ggc gtc gcg gtc 582  
 Ala Ile Asp His Ile Phe Leu Ser Ser Ile Lys Tyr Gly Val Ala Val  
 165 170 175 180

## 52

```

aat gct ttc atc cac acc gtc atg tac gcg cac tac ttc cgc cca ttc      630
Asn Ala Phe Ile His Thr Val Met Tyr Ala His Tyr Phe Arg Pro Phe
      185                      190                      195

ccg aag ggc ttg cgc ccg ctt att acg cag ttg cag atc gtc cag ttc      678
Pro Lys Gly Leu Arg Pro Leu Ile Thr Gln Leu Gln Ile Val Gln Phe
      200                      205                      210

att ttc agc atc ggc atc cat acc gcc att tac tgg cac tac gac tgc      726
Ile Phe Ser Ile Gly Ile His Thr Ala Ile Tyr Trp His Tyr Asp Cys
      215                      220                      225

gag ccg ctc gtg cat acc cac ttt tgg gaa tac gtc acg ccc tac ctt      774
Glu Pro Leu Val His Thr His Phe Trp Glu Tyr Val Thr Pro Tyr Leu
      230                      235                      240

ttc gtc gtg ccc ttc ctc atc ctc ttt ttc aat ttt tac ctg cag cag      822
Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe Tyr Leu Gln Gln
      245                      250                      255                      260

tac gtc ctc gcg ccc gca aaa acc aag aag gca tag ccacgtaaca      868
Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala
      265                      270

gtagaccagc agcgccgagg acgcgtgccg cgttatcgcg aagcacgaaa taaagaagat      928

catttgattc aacgaggcta cttgcggcca cgagaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      988

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      1048

c                                                                 1049

<210> 30
<211> 271
<212> PRT
<213> Thraustochytrium

<400> 30

Met Met Glu Pro Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala
1                      5                      10                      15

Arg Tyr Ala Ser Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala
20                      25                      30

Lys Asp Ser Phe Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu
35                      40                      45

Leu Val Gly Ser Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr
50                      55                      60

Ala Leu Arg Asn Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His
65                      70                      75                      80

Asn Leu Gly Leu Cys Leu Phe Ser Gly Ala Val Trp Ile Tyr Thr Ser
85                      90                      95

Tyr Leu Met Ile Gln Asp Gly His Phe Arg Ser Leu Glu Ala Ala Thr
100                      105                      110

```

WO 2005/012316

53

Cys Glu Pro Leu Lys His Pro His Phe Gln Leu Ile Ser Leu Leu Phe  
 115 120 125  
 Ala Leu Ser Lys Ile Trp Glu Trp Phe Asp Thr Val Leu Leu Ile Val  
 130 135 140  
 Lys Gly Asn Lys Leu Arg Phe Leu His Val Leu His His Ala Thr Thr  
 145 150 155 160  
 Phe Trp Leu Tyr Ala Ile Asp His Ile Phe Leu Ser Ser Ile Lys Tyr  
 165 170 175  
 Gly Val Ala Val Asn Ala Phe Ile His Thr Val Met Tyr Ala His Tyr  
 180 185 190  
 Phe Arg Pro Phe Pro Lys Gly Leu Arg Pro Leu Ile Thr Gln Leu Gln  
 195 200 205  
 Ile Val Gln Phe Ile Phe Ser Ile Gly Ile His Thr Ala Ile Tyr Trp  
 210 215 220  
 His Tyr Asp Cys Glu Pro Leu Val His Thr His Phe Trp Glu Tyr Val  
 225 230 235 240  
 Thr Pro Tyr Leu Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe  
 245 250 255  
 Tyr Leu Gln Gln Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala  
 260 265 270

<210> 31  
 <211> 837  
 <212> DNA  
 <213> *Phytophthora infestans*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(837)  
 <223> Delta-6-Elongase

<400> 31  
 atg tcg act gag cta ctg cag agc tac tac gcg tgg gcc aac gcc acg 48  
 Met Ser Thr Glu Leu Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Trp Ala Asn Ala Thr  
 1 5 10 15  
 gag gcc aag ctg ctg gac tgg gtc gac cct gag ggc ggc tgg aag gtg 96  
 Glu Ala Lys Leu Leu Asp Trp Val Asp Pro Glu Gly Gly Trp Lys Val  
 20 25 30  
 cat cct atg gca gac tac ccc cta gcc aac ttc tcc agc gtc tac gcc 144  
 His Pro Met Ala Asp Tyr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Ser Val Tyr Ala  
 35 40 45  
 atc tgc gtc gga tac ttg ctc ttc gta atc ttc ggc acg gcc ctg atg 192  
 Ile Cys Val Gly Tyr Leu Leu Phe Val Ile Phe Gly Thr Ala Leu Met  
 50 55 60

54

aaa atg gga gtc ccc gcc atc aag acc agt cca tta cag ttt gtg tac 240  
 Lys Met Gly Val Pro Ala Ile Lys Thr Ser Pro Leu Gln Phe Val Tyr  
 65 70 75 80  
 aac ccc atc caa gtc att gcc tgc tct tat atg tgc gtg gag gcc gcc 288  
 Asn Pro Ile Gln Val Ile Ala Cys Ser Tyr Met Cys Val Glu Ala Ala  
 85 90 95  
 atc cag gcc tac cgc aac ggc tac acc gcc gcc ccg tgc aac gcc ttt 336  
 Ile Gln Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Ala Ala Pro Cys Asn Ala Phe  
 100 105 110  
 aag tcc gac gac ccc gtc atg ggc aac gtt ctg tac ctc ttc tat ctc 384  
 Lys Ser Asp Asp Pro Val Met Gly Asn Val Leu Tyr Leu Phe Tyr Leu  
 115 120 125  
 tcc aag atg ctc gac ctg tgc gac aca gtc ttc att atc cta gga aag 432  
 Ser Lys Met Leu Asp Leu Cys Asp Thr Val Phe Ile Ile Leu Gly Lys  
 130 135 140  
 aag tgg aaa cag ctt tcc atc ttg cac gtg tac cac cac ctt acc gtg 480  
 Lys Trp Lys Gln Leu Ser Ile Leu His Val Tyr His His Leu Thr Val  
 145 150 155 160  
 ctt ttc gtc tac tat gtg acg ttc cgc gcc gct cag gac ggg gac tca 528  
 Leu Phe Val Tyr Tyr Val Thr Phe Arg Ala Ala Gln Asp Gly Asp Ser  
 165 170 175  
 tat gct acc atc gtg ctc aac ggc ttc gtg cac acc atc atg tac act 576  
 Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr  
 180 185 190  
 tac tac ttc gtc agc gcc cac acg cgc aac att tgg tgg aag aag tac 624  
 Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr  
 195 200 205  
 ctc acg cgc att cag ctt atc cag ttc gtg acc atg aac gtg cag ggc 672  
 Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly  
 210 215 220  
 tac ctg acc tac tct cga cag tgc cca ggc atg cct cct aag gtg ccg 720  
 Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro  
 225 230 235 240  
 ctc atg tac ctt gtg tac gtg cag tca ctc ttc tgg ctc ttc atg aat 768  
 Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn  
 245 250 255  
 ttc tac att cgc gcg tac gtg ttc ggc ccc aag aaa ccg gcc gtg gag 816  
 Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu  
 260 265 270  
 gaa tcg aag aag aag ttg taa 837  
 Glu Ser Lys Lys Lys Leu  
 275

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 278

&lt;212&gt; PRT

<213> *Phytophthora infestans*

&lt;400&gt; 32

Met Ser Thr Glu Leu Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Trp Ala Asn Ala Thr  
 1 5 10 15

55

Glu Ala Lys Leu Leu Asp Trp Val Asp Pro Glu Gly Gly Trp Lys Val  
 20 25 30

His Pro Met Ala Asp Tyr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Ser Val Tyr Ala  
 35 40 45

Ile Cys Val Gly Tyr Leu Leu Phe Val Ile Phe Gly Thr Ala Leu Met  
 50 55 60

Lys Met Gly Val Pro Ala Ile Lys Thr Ser Pro Leu Gln Phe Val Tyr  
 65 70 75 80

Asn Pro Ile Gln Val Ile Ala Cys Ser Tyr Met Cys Val Glu Ala Ala  
 85 90 95

Ile Gln Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Ala Ala Pro Cys Asn Ala Phe  
 100 105 110

Lys Ser Asp Asp Pro Val Met Gly Asn Val Leu Tyr Leu Phe Tyr Leu  
 115 120 125

Ser Lys Met Leu Asp Leu Cys Asp Thr Val Phe Ile Ile Leu Gly Lys  
 130 135 140

Lys Trp Lys Gln Leu Ser Ile Leu His Val Tyr His His Leu Thr Val  
 145 150 155 160

Leu Phe Val Tyr Tyr Val Thr Phe Arg Ala Ala Gln Asp Gly Asp Ser  
 165 170 175

Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr  
 180 185 190

Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr  
 195 200 205

Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly  
 210 215 220

Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro  
 225 230 235 240

Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn  
 245 250 255

Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu  
 260 265 270

Glu Ser Lys Lys Lys Leu  
 275

<210> 33  
 <211> 954  
 <212> DNA  
 <213> *Mortierella alpina*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(954)  
 <223> Delta-6-Elongase

<400> 33  
 atg gcc gcc gca atc ttg gac aag gtc aac ttc ggc att gat cag ccc 48  
 Met Ala Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro  
 1 5 10 15  
 ttc gga atc aag ctc gac acc tac ttt gct cag gcc tat gaa ctc gtc 96  
 Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val  
 20 25 30  
 acc gga aag tcc atc gac tcc ttc gtc ttc cag gag ggc gtc acg cct 144  
 Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro  
 35 40 45  
 ctc tcg acc cag aga gag gtc gcc atg tgg act atc act tac ttc gtc 192  
 Leu Ser Thr Gln Arg Glu Val Ala Met Trp Thr Ile Thr Tyr Phe Val  
 50 55 60  
 gtc atc ttt ggt ggt cgc cag atc atg aag agc cag gac gcc ttc aag 240  
 Val Ile Phe Gly Gly Arg Gln Ile Met Lys Ser Gln Asp Ala Phe Lys  
 65 70 75 80  
 ctc aag ccc ctc ttc atc ctc cac aac ttc ctc ctg acg atc gcg tcc 288  
 Leu Lys Pro Leu Phe Ile Leu His Asn Phe Leu Leu Thr Ile Ala Ser  
 85 90 95  
 gga tcg ctg ttg ctc ctg ttc atc gag aac ctg gtc ccc atc ctc gcc 336  
 Gly Ser Leu Leu Leu Leu Phe Ile Glu Asn Leu Val Pro Ile Leu Ala  
 100 105 110  
 aga aac gga ctt ttc tac gcc atc tgc gac gac ggt gcc tgg acc cag 384  
 Arg Asn Gly Leu Phe Tyr Ala Ile Cys Asp Asp Gly Ala Trp Thr Gln  
 115 120 125  
 cgc ctc gag ctc ctc tac tac ctc aac tac ctg gtc aag tac tgg gag 432  
 Arg Leu Glu Leu Leu Tyr Tyr Leu Asn Tyr Leu Val Lys Tyr Trp Glu  
 130 135 140  
 ttg gcc gac acc gtc ttt ttg gtc ctc aag aag aag cct ctt gag ttc 480  
 Leu Ala Asp Thr Val Phe Leu Val Leu Lys Lys Lys Pro Leu Glu Phe  
 145 150 155 160  
 ctg cac tac ttc cac cac tcg atg acc atg gtt ctc tgc ttt gtc cag 528  
 Leu His Tyr Phe His His Ser Met Thr Met Val Leu Cys Phe Val Gln  
 165 170 175  
 ctt gga gga tac act tca gtg tcc tgg gtc cct att acc ctc aac ttg 576  
 Leu Gly Gly Tyr Thr Ser Val Ser Trp Val Pro Ile Thr Leu Asn Leu  
 180 185 190  
 act gtc cac gtc ttc atg tac tac tac tac atg cgc tcc gct gcc ggt 624  
 Thr Val His Val Phe Met Tyr Tyr Tyr Tyr Met Arg Ser Ala Ala Gly  
 195 200 205  
 gtt cgc atc tgg tgg aag cag tac ttg acc act ctc cag atc gtc cag 672  
 Val Arg Ile Trp Trp Lys Gln Tyr Leu Thr Thr Leu Gln Ile Val Gln  
 210 215 220

## 57

ttc gtt ctt gac ctc gga ttc atc tac ttc tgc gcc tac acc tac ttc 720  
 Phe Val Leu Asp Leu Gly Phe Ile Tyr Phe Cys Ala Tyr Thr Tyr Phe  
 225 230 235 240  
 gcc ttc acc tac ttc ccc tgg gct ccc aac gtc ggc aag tgc gcc ggt 768  
 Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Trp Ala Pro Asn Val Gly Lys Cys Ala Gly  
 245 250 255  
 acc gag ggt gct gct ctc ttt ggc tgc gga ctc ctc tcc agc tat ctc 816  
 Thr Glu Gly Ala Ala Leu Phe Gly Cys Gly Leu Leu Ser Ser Tyr Leu  
 260 265 270  
 ttg ctc ttt atc aac ttc tac cgc att acc tac aat gcc aag gcc aag 864  
 Leu Leu Phe Ile Asn Phe Tyr Arg Ile Thr Tyr Asn Ala Lys Ala Lys  
 275 280 285  
 gca gcc aag gag cgt gga agc aac ttt acc ccc aag act gtc aag tcc 912  
 Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser  
 290 295 300  
 ggc gga tgc ccc aag aag ccc tcc aag agc aag cac atc taa 954  
 Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile  
 305 310 315

<210> 34  
 <211> 317  
 <212> PRT  
 <213> Mortierella alpina  
 <400> 34

Met Ala Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro  
 1 5 10 15  
 Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val  
 20 25 30  
 Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro  
 35 40 45  
 Leu Ser Thr Gln Arg Glu Val Ala Met Trp Thr Ile Thr Tyr Phe Val  
 50 55 60  
 Val Ile Phe Gly Gly Arg Gln Ile Met Lys Ser Gln Asp Ala Phe Lys  
 65 70 75 80  
 Leu Lys Pro Leu Phe Ile Leu His Asn Phe Leu Leu Thr Ile Ala Ser  
 85 90 95  
 Gly Ser Leu Leu Leu Leu Phe Ile Glu Asn Leu Val Pro Ile Leu Ala  
 100 105 110  
 Arg Asn Gly Leu Phe Tyr Ala Ile Cys Asp Asp Gly Ala Trp Thr Gln  
 115 120 125  
 Arg Leu Glu Leu Leu Tyr Tyr Leu Asn Tyr Leu Val Lys Tyr Trp Glu  
 130 135 140



58

Leu Ala Asp Thr Val Phe Leu Val Leu Lys Lys Lys Pro Leu Glu Phe  
 145 150 155 160

Leu His Tyr Phe His His Ser Met Thr Met Val Leu Cys Phe Val Gln  
 165 170 175

Leu Gly Gly Tyr Thr Ser Val Ser Trp Val Pro Ile Thr Leu Asn Leu  
 180 185 190

Thr Val His Val Phe Met Tyr Tyr Tyr Tyr Met Arg Ser Ala Ala Gly  
 195 200 205

Val Arg Ile Trp Trp Lys Gln Tyr Leu Thr Thr Leu Gln Ile Val Gln  
 210 215 220

Phe Val Leu Asp Leu Gly Phe Ile Tyr Phe Cys Ala Tyr Thr Tyr Phe  
 225 230 235 240

Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Trp Ala Pro Asn Val Gly Lys Cys Ala Gly  
 245 250 255

Thr Glu Gly Ala Ala Leu Phe Gly Cys Gly Leu Leu Ser Ser Tyr Leu  
 260 265 270

Leu Leu Phe Ile Asn Phe Tyr Arg Ile Thr Tyr Asn Ala Lys Ala Lys  
 275 280 285

Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser  
 290 295 300

Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile  
 305 310 315

<210> 35  
 <211> 957  
 <212> DNA  
 <213> Mortierella alpina

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(957)  
 <223> Delta-6-Elongase

<400> 35  
 atg gag tcg att gcg cca ttc ctc cca tca aag atg ccg caa gat ctg 48  
 Met Glu Ser Ile Ala Pro Phe Leu Pro Ser Lys Met Pro Gln Asp Leu  
 1 5 10 15  
 ttt atg gac ctt gcc acc gct atc ggt gtc cgg gcc gcg ccc tat gtc 96  
 Phe Met Asp Leu Ala Thr Ala Ile Gly Val Arg Ala Ala Pro Tyr Val  
 20 25 30  
 gat cct ctc gag gcc gcg ctg gtg gcc cag gcc gag aag tac atc ccc 144  
 Asp Pro Leu Glu Ala Ala Leu Val Ala Gln Ala Glu Lys Tyr Ile Pro  
 35 40 45

59

acg att gtc cat cac acg cgt ggg ttc ctg gtc gcg gtg gag tcg cct Thr Ile Val His His Thr Arg Gly Phe Leu Val Ala Val Glu Ser Pro 50 55 60	192
ttg gcc cgt gag ctg ccg ttg atg aac ccg ttc cac gtg ctg ttg atc Leu Ala Arg Glu Leu Pro Leu Met Asn Pro Phe His Val Leu Leu Ile 65 70 75 80	240
gtg ctc gct tat ttg gtc acg gtc ttt gtg ggc atg cag atc atg aag Val Leu Ala Tyr Leu Val Thr Val Phe Val Gly Met Gln Ile Met Lys 85 90 95	288
aac ttt gag cgg ttc gag gtc aag acg ttt tcg ctc ctg cac aac ttt Asn Phe Glu Arg Phe Glu Val Lys Thr Phe Ser Leu Leu His Asn Phe 100 105 110	336
tgt ctg gtc tcg atc agc gcc tac atg tgc ggt ggg atc ctg tac gag Cys Leu Val Ser Ile Ser Ala Tyr Met Cys Gly Gly Ile Leu Tyr Glu 115 120 125	384
gct tat cag gcc aac tat gga ctg ttt gag aac gct gct gat cat acc Ala Tyr Gln Ala Asn Tyr Gly Leu Phe Glu Asn Ala Ala Asp His Thr 130 135 140	432
ttc aag ggt ctt cct atg gcc aag atg atc tgg ctc ttc tac ttc tcc Phe Lys Gly Leu Pro Met Ala Lys Met Ile Trp Leu Phe Tyr Phe Ser 145 150 155 160	480
aag atc atg gag ttt gtc gac acc atg atc atg gtc ctc aag aag aac Lys Ile Met Glu Phe Val Asp Thr Met Ile Met Val Leu Lys Lys Asn 165 170 175	528
aac cgc cag atc tcc ttc ttg cac gtt tac cac cac agc tcc atc ttc Asn Arg Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Phe 180 185 190	576
acc atc tgg tgg ttg gtc acc ttt gtt gca ccc aac ggt gaa gcc tac Thr Ile Trp Trp Leu Val Thr Phe Val Ala Pro Asn Gly Glu Ala Tyr 195 200 205	624
ttc tct gct gcg ttg aac tcg ttc atc cat gtg atc atg tac ggc tac Phe Ser Ala Ala Leu Asn Ser Phe Ile His Val Ile Met Tyr Gly Tyr 210 215 220	672
tac ttc ttg tcg gcc ttg ggc ttc aag cag gtg tcg ttc atc aag ttc Tyr Phe Leu Ser Ala Leu Gly Phe Lys Gln Val Ser Phe Ile Lys Phe 225 230 235 240	720
tac atc acg cgc tcg cag atg aca cag ttc tgc atg atg tcg gtc cag Tyr Ile Thr Arg Ser Gln Met Thr Gln Phe Cys Met Met Ser Val Gln 245 250 255	768
tct tcc tgg gac atg tac gcc atg aag gtc ctt ggc cgc ccc gga tac Ser Ser Trp Asp Met Tyr Ala Met Lys Val Leu Gly Arg Pro Gly Tyr 260 265 270	816
ccc ttc ttc atc acg gct ctg ctt tgg ttc tac atg tgg acc atg ctc Pro Phe Phe Ile Thr Ala Leu Leu Trp Phe Tyr Met Trp Thr Met Leu 275 280 285	864
ggt ctc ttc tac aac ttt tac aga aag aac gcc aag ttg gcc aag cag Gly Leu Phe Tyr Asn Phe Tyr Arg Lys Asn Ala Lys Leu Ala Lys Gln 290 295 300	912
gcc aag gcc gac gct gcc aag gag aag gca agg aag ttg cag taa Ala Lys Ala Asp Ala Ala Lys Glu Lys Ala Arg Lys Leu Gln 305 310 315	957

<210> 36  
 <211> 318  
 <212> PRT  
 <213> Mortierella alpina

<400> 36

Met Glu Ser Ile Ala Pro Phe Leu Pro Ser Lys Met Pro Gln Asp Leu  
 1 5 10 15

Phe Met Asp Leu Ala Thr Ala Ile Gly Val Arg Ala Ala Pro Tyr Val  
 20 25 30

Asp Pro Leu Glu Ala Ala Leu Val Ala Gln Ala Glu Lys Tyr Ile Pro  
 35 40 45

Thr Ile Val His His Thr Arg Gly Phe Leu Val Ala Val Glu Ser Pro  
 50 55 60

Leu Ala Arg Glu Leu Pro Leu Met Asn Pro Phe His Val Leu Leu Ile  
 65 70 75 80

Val Leu Ala Tyr Leu Val Thr Val Phe Val Gly Met Gln Ile Met Lys  
 85 90 95

Asn Phe Glu Arg Phe Glu Val Lys Thr Phe Ser Leu Leu His Asn Phe  
 100 105 110

Cys Leu Val Ser Ile Ser Ala Tyr Met Cys Gly Gly Ile Leu Tyr Glu  
 115 120 125

Ala Tyr Gln Ala Asn Tyr Gly Leu Phe Glu Asn Ala Ala Asp His Thr  
 130 135 140

Phe Lys Gly Leu Pro Met Ala Lys Met Ile Trp Leu Phe Tyr Phe Ser  
 145 150 155 160

Lys Ile Met Glu Phe Val Asp Thr Met Ile Met Val Leu Lys Lys Asn  
 165 170 175

Asn Arg Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Phe  
 180 185 190

Thr Ile Trp Trp Leu Val Thr Phe Val Ala Pro Asn Gly Glu Ala Tyr  
 195 200 205

Phe Ser Ala Ala Leu Asn Ser Phe Ile His Val Ile Met Tyr Gly Tyr  
 210 215 220

Tyr Phe Leu Ser Ala Leu Gly Phe Lys Gln Val Ser Phe Ile Lys Phe  
 225 230 235 240

Tyr Ile Thr Arg Ser Gln Met Thr Gln Phe Cys Met Met Ser Val Gln  
 245 250 255  
 Ser Ser Trp Asp Met Tyr Ala Met Lys Val Leu Gly Arg Pro Gly Tyr  
 260 265 270  
 Pro Phe Phe Ile Thr Ala Leu Leu Trp Phe Tyr Met Trp Thr Met Leu  
 275 280 285  
 Gly Leu Phe Tyr Asn Phe Tyr Arg Lys Asn Ala Lys Leu Ala Lys Gln  
 290 295 300  
 Ala Lys Ala Asp Ala Ala Lys Glu Lys Ala Arg Lys Leu Gln  
 305 310 315

<210> 37  
 <211> 867  
 <212> DNA  
 <213> Caenorhabditis elegans  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(867)  
 <223> Delta-6-Elongase

<400> 37 48  
 atg gct cag cat ccg ctc gtt caa cgg ctt ctc gat gtc aaa ttc gac  
 Met Ala Gln His Pro Leu Val Gln Arg Leu Leu Asp Val Lys Phe Asp  
 1 5 10 15  
 acg aaa cga ttt gtg gct att gct act cat ggg cca aag aat ttc cct 96  
 Thr Lys Arg Phe Val Ala Ile Ala Thr His Gly Pro Lys Asn Phe Pro  
 20 25 30  
 gac gca gaa ggt cgc aag ttc ttt gct gat cac ttt gat gtt act att 144  
 Asp Ala Glu Gly Arg Lys Phe Phe Ala Asp His Phe Asp Val Thr Ile  
 35 40 45  
 cag gct tca atc ctg tac atg gtc gtt gtg ttc gga aca aaa tgg ttc 192  
 Gln Ala Ser Ile Leu Tyr Met Val Val Val Phe Gly Thr Lys Trp Phe  
 50 55 60  
 atg cgt aat cgt caa cca ttc caa ttg act att cca ctc aac atc tgg 240  
 Met Arg Asn Arg Gln Pro Phe Gln Leu Thr Ile Pro Leu Asn Ile Trp  
 65 70 75 80  
 aat ttc atc ctc gcc gca ttt tcc atc gca gga gct gtc aaa atg acc 288  
 Asn Phe Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Ala Gly Ala Val Lys Met Thr  
 85 90 95  
 cca gag ttc ttt gga acc att gcc aac aaa gga att gtc gca tcc tac 336  
 Pro Glu Phe Phe Gly Thr Ile Ala Asn Lys Gly Ile Val Ala Ser Tyr  
 100 105 110  
 tgc aaa gtg ttt gat ttc acg aaa gga gag aat gga tac tgg gtg tgg 384  
 Cys Lys Val Phe Asp Phe Thr Lys Gly Glu Asn Gly Tyr Trp Val Trp  
 115 120 125  
 ctc ttc atg gct tcc aaa ctt ttc gaa ctt gtt gac acc atc ttc ttg 432  
 Leu Phe Met Ala Ser Lys Leu Phe Glu Leu Val Asp Thr Ile Phe Leu  
 130 135 140

## 62

gtt ctc cgt aaa cgt cca ctc atg ttc ctt cac tgg tat cac cat att 480  
Val Leu Arg Lys Arg Pro Leu Met Phe Leu His Trp Tyr His His Ile  
145 150 155 160

ctc acc atg atc tac gcc tgg tac tct cat cca ttg acc cca gga ttc 528  
Leu Thr Met Ile Tyr Ala Trp Tyr Ser His Pro Leu Thr Pro Gly Phe  
165 170 175

aac aga tac gga att tat ctt aac ttt gtc gtc cac gcc ttc atg tac 576  
Asn Arg Tyr Gly Ile Tyr Leu Asn Phe Val Val His Ala Phe Met Tyr  
180 185 190

tct tac tac ttc ctt cgc tgc atg aag att cgc gtg cca gga ttc atc 624  
Ser Tyr Tyr Phe Leu Arg Ser Met Lys Ile Arg Val Pro Gly Phe Ile  
195 200 205

gcc caa gct atc aca tct ctt caa atc gtt caa ttc atc atc tct tgc 672  
Ala Gln Ala Ile Thr Ser Leu Gln Ile Val Gln Phe Ile Ile Ser Cys  
210 215 220

gcc gtt ctt gct cat ctt ggt tat ctc atg cac ttc acc aat gcc aac 720  
Ala Val Leu Ala His Leu Gly Tyr Leu Met His Phe Thr Asn Ala Asn  
225 230 235 240

tgt gat ttc gag cca tca gta ttc aag ctc gca gtt ttc atg gac aca 768  
Cys Asp Phe Glu Pro Ser Val Phe Lys Leu Ala Val Phe Met Asp Thr  
245 250 255

aca tac ttg gct ctt ttc gtc aac ttc ttc ctc caa tca tat gtt ctc 816  
Thr Tyr Leu Ala Leu Phe Val Asn Phe Phe Leu Gln Ser Tyr Val Leu  
260 265 270

cgc gga gga aaa gac aag tac aag gca gtg cca aag aag aag aac aac 864  
Arg Gly Gly Lys Asp Lys Tyr Lys Ala Val Pro Lys Lys Lys Asn Asn  
275 280 285

taa 867

<210> 38  
<211> 288  
<212> PRT  
<213> Caenorhabditis elegans

<400> 38

Met Ala Gln His Pro Leu Val Gln Arg Leu Leu Asp Val Lys Phe Asp  
1 5 10 15

Thr Lys Arg Phe Val Ala Ile Ala Thr His Gly Pro Lys Asn Phe Pro  
20 25 30

Asp Ala Glu Gly Arg Lys Phe Phe Ala Asp His Phe Asp Val Thr Ile  
35 40 45

Gln Ala Ser Ile Leu Tyr Met Val Val Val Phe Gly Thr Lys Trp Phe  
50 55 60

Met Arg Asn Arg Gln Pro Phe Gln Leu Thr Ile Pro Leu Asn Ile Trp  
65 70 75 80

Asn Phe Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Ala Gly Ala Val Lys Met Thr  
85 90 95

Pro Glu Phe Phe Gly Thr Ile Ala Asn Lys Gly Ile Val Ala Ser Tyr  
 100 105 110  
 Cys Lys Val Phe Asp Phe Thr Lys Gly Glu Asn Gly Tyr Trp Val Trp  
 115 120 125  
 Leu Phe Met Ala Ser Lys Leu Phe Glu Leu Val Asp Thr Ile Phe Leu  
 130 135 140  
 Val Leu Arg Lys Arg Pro Leu Met Phe Leu His Trp Tyr His His Ile  
 145 150 155 160  
 Leu Thr Met Ile Tyr Ala Trp Tyr Ser His Pro Leu Thr Pro Gly Phe  
 165 170 175  
 Asn Arg Tyr Gly Ile Tyr Leu Asn Phe Val Val His Ala Phe Met Tyr  
 180 185 190  
 Ser Tyr Tyr Phe Leu Arg Ser Met Lys Ile Arg Val Pro Gly Phe Ile  
 195 200 205  
 Ala Gln Ala Ile Thr Ser Leu Gln Ile Val Gln Phe Ile Ile Ser Cys  
 210 215 220  
 Ala Val Leu Ala His Leu Gly Tyr Leu Met His Phe Thr Asn Ala Asn  
 225 230 235 240  
 Cys Asp Phe Glu Pro Ser Val Phe Lys Leu Ala Val Phe Met Asp Thr  
 245 250 255  
 Thr Tyr Leu Ala Leu Phe Val Asn Phe Phe Leu Gln Ser Tyr Val Leu  
 260 265 270  
 Arg Gly Gly Lys Asp Lys Tyr Lys Ala Val Pro Lys Lys Lys Asn Asn  
 275 280 285  
 <210> 39  
 <211> 1626  
 <212> DNA  
 <213> *Euglena gracilis*  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1626)  
 <223> Delta-4-Desaturase  
 <400> 39  
 atg ttg gtg ctg ttt ggc aat ttc tat gtc aag caa tac tcc caa aag 48  
 Met Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Lys Gln Tyr Ser Gln Lys  
 1 5 10 15  
 aac ggc aag ccg gag aac gga gcc acc cct gag aac gga gcg aag ccg 96  
 Asn Gly Lys Pro Glu Asn Gly Ala Thr Pro Glu Asn Gly Ala Lys Pro

20	25	30	
caa cct tgc gag aac ggc acg gtg gaa aag cga gag aat gac acc gcc Gln Pro Cys Glu Asn Gly Thr Val Glu Lys Arg Glu Asn Asp Thr Ala 35 40 45			144
aac gtt cgg ccc acc cgt cca gct gga ccc ccg ccg gcc acg tac tac Asn Val Arg Pro Thr Arg Pro Ala Gly Pro Pro Pro Ala Thr Tyr Tyr 50 55 60			192
gac tcc ctg gca gtg tcg ggg cag ggc aag gag cgg ctg ttc acc acc Asp Ser Leu Ala Val Ser Gly Gln Gly Lys Glu Arg Leu Phe Thr Thr 65 70 75 80			240
gat gag gtg agg cgg cac atc ctc ccc acc gat ggc tgg ctg acg tgc Asp Glu Val Arg Arg His Ile Leu Pro Thr Asp Gly Trp Leu Thr Cys 85 90 95			288
cac gaa gga gtc tac gat gtc act gat ttc ctt gcc aag cac cct ggt His Glu Gly Val Tyr Asp Val Thr Asp Phe Leu Ala Lys His Pro Gly 100 105 110			336
ggc ggt gtc atc acg ctg ggc ctt gga agg gac tgc aca atc ctc atc Gly Gly Val Ile Thr Leu Gly Leu Gly Arg Asp Cys Thr Ile Leu Ile 115 120 125			384
gag tca tac cac cct gct ggg cgc ccg gac aag gtg atg gag aag tac Glu Ser Tyr His Pro Ala Gly Arg Pro Asp Lys Val Met Glu Lys Tyr 130 135 140			432
cgc att ggt acg ctg cag gac ccc aag acg ttc tat gct tgg gga gag Arg Ile Gly Thr Leu Gln Asp Pro Lys Thr Phe Tyr Ala Trp Gly Glu 145 150 155 160			480
tcc gat ttc tac cct gag ttg aag cgc cgg gcc ctt gca agg ctg aag Ser Asp Phe Tyr Pro Glu Leu Lys Arg Arg Ala Leu Ala Arg Leu Lys 165 170 175			528
gag gct ggt cag gcg cgg cgc ggc ggc ctt ggg gtg aag gcc ctc ctg Glu Ala Gly Gln Ala Arg Arg Gly Gly Leu Gly Val Lys Ala Leu Leu 180 185 190			576
gtg ctc acc ctc ttc ttc gtg tcg tgg tac atg tgg gtg gcc cac aag Val Leu Thr Leu Phe Phe Val Ser Trp Tyr Met Trp Val Ala His Lys 195 200 205			624
tcc ttc ctc tgg gcc gcc gtc tgg ggc ttc gcc ggc tcc cac gtc ggg Ser Phe Leu Trp Ala Ala Val Trp Gly Phe Ala Gly Ser His Val Gly 210 215 220			672
ctg agc atc cag cac gat ggc aac cac ggc gcg ttc agc cgc aac aca Leu Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly Ala Phe Ser Arg Asn Thr 225 230 235 240			720
ctg gtg aac cgc ctg gcg ggg tgg ggc atg gac ttg atc ggc gcg tcg Leu Val Asn Arg Leu Ala Gly Trp Gly Met Asp Leu Ile Gly Ala Ser 245 250 255			768
tcc acg gtg tgg gag tac cag cac gtc atc ggc cac cac cag tac acc Ser Thr Val Trp Glu Tyr Gln His Val Ile Gly His His Gln Tyr Thr 260 265 270			816
aac ctc gtg tcg gac acg cta ttc agt ctg cct gag aac gat ccg gac Asn Leu Val Ser Asp Thr Leu Phe Ser Leu Pro Glu Asn Asp Pro Asp 275 280 285			864
gtc ttc tcc agc tac ccg ctg atg cgc atg cac ccg gat acg gcg tgg Val Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Met Arg Met His Pro Asp Thr Ala Trp			912

290	295	300	
cag ccg cac cac cgc ttc cag cac ctg ttc gcg ttc cca ctg ttc gcc Gln Pro His His Arg Phe Gln His Leu Phe Ala Phe Pro Leu Phe Ala 305 310 315 320			960
ctg atg aca atc agc aag gtg ctg acc agc gat ttc gct gtc tgc ctc Leu Met Thr Ile Ser Lys Val Leu Thr Ser Asp Phe Ala Val Cys Leu 325 330 335			1008
agc atg aag aag ggg tcc atc gac tgc tcc tcc agg ctc gtc cca ctg Ser Met Lys Lys Gly Ser Ile Asp Cys Ser Ser Arg Leu Val Pro Leu 340 345 350			1056
gag ggg cag ctg ctg ttc tgg ggg gcc aag ctg gcg aac ttc ctg ttg Glu Gly Gln Leu Leu Phe Trp Gly Ala Lys Leu Ala Asn Phe Leu Leu 355 360 365			1104
cag att gtg ttg cca tgc tac ctc cac ggg aca gct atg ggc ctg gcc Gln Ile Val Leu Pro Cys Tyr Leu His Gly Thr Ala Met Gly Leu Ala 370 375 380			1152
ctc ttc tct gtt gct cac ctt gtg tcg ggg gag tac ctc gcg atc tgc Leu Phe Ser Val Ala His Leu Val Ser Gly Glu Tyr Leu Ala Ile Cys 385 390 395 400			1200
ttc atc atc aac cac atc agc gag tct tgt gag ttt atg aat aca agc Phe Ile Ile Asn His Ile Ser Glu Ser Cys Glu Phe Met Asn Thr Ser 405 410 415			1248
ttt caa acc gcc gcc cgg agg aca gag atg ctt cag gca gca cat cag Phe Gln Thr Ala Ala Arg Arg Thr Glu Met Leu Gln Ala Ala His Gln 420 425 430			1296
gca gcg gag gcc aag aag gtg aag ccc acc cct cca ccg aac gat tgg Ala Ala Glu Ala Lys Lys Val Lys Pro Thr Pro Pro Pro Asn Asp Trp 435 440 445			1344
gct gtg aca cag gtc caa tgc tgc gtg aat tgg aga tca ggt ggc gtg Ala Val Thr Gln Val Gln Cys Cys Val Asn Trp Arg Ser Gly Gly Val 450 455 460			1392
ttg gcc aat cac ctc tct gga ggc ttg aac cac cag atc gag cat cat Leu Ala Asn His Leu Ser Gly Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His 465 470 475 480			1440
ctg ttc ccc agc atc tcg cat gcc aac tac ccc acc atc gcc cct gtt Leu Phe Pro Ser Ile Ser His Ala Asn Tyr Pro Thr Ile Ala Pro Val 485 490 495			1488
gtg aag gag gtg tgc gag gag tac ggg ttg ccg tac aag aat tac gtc Val Lys Glu Val Cys Glu Glu Tyr Gly Leu Pro Tyr Lys Asn Tyr Val 500 505 510			1536
acg ttc tgg gat gca gtc tgt ggc atg gtt cag cac ctc cgg ttg atg Thr Phe Trp Asp Ala Val Cys Gly Met Val Gln His Leu Arg Leu Met 515 520 525			1584
ggt gct cca ccg gtg cca acg aac ggg gac aaa aag tca taa Gly Ala Pro Pro Val Pro Thr Asn Gly Asp Lys Lys Ser 530 535 540			1626

<210> 40  
 <211> 541  
 <212> PRT  
 <213> Euglena gracilis



&lt;400&gt; 40

Met Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Lys Gln Tyr Ser Gln Lys  
1 5 10 15

Asn Gly Lys Pro Glu Asn Gly Ala Thr Pro Glu Asn Gly Ala Lys Pro  
20 25 30

Gln Pro Cys Glu Asn Gly Thr Val Glu Lys Arg Glu Asn Asp Thr Ala  
35 40 45

Asn Val Arg Pro Thr Arg Pro Ala Gly Pro Pro Pro Ala Thr Tyr Tyr  
50 55 60

Asp Ser Leu Ala Val Ser Gly Gln Gly Lys Glu Arg Leu Phe Thr Thr  
65 70 75 80

Asp Glu Val Arg Arg His Ile Leu Pro Thr Asp Gly Trp Leu Thr Cys  
85 90 95

His Glu Gly Val Tyr Asp Val Thr Asp Phe Leu Ala Lys His Pro Gly  
100 105 110

Gly Gly Val Ile Thr Leu Gly Leu Gly Arg Asp Cys Thr Ile Leu Ile  
115 120 125

Glu Ser Tyr His Pro Ala Gly Arg Pro Asp Lys Val Met Glu Lys Tyr  
130 135 140

Arg Ile Gly Thr Leu Gln Asp Pro Lys Thr Phe Tyr Ala Trp Gly Glu  
145 150 155 160

Ser Asp Phe Tyr Pro Glu Leu Lys Arg Arg Ala Leu Ala Arg Leu Lys  
165 170 175

Glu Ala Gly Gln Ala Arg Arg Gly Gly Leu Gly Val Lys Ala Leu Leu  
180 185 190

Val Leu Thr Leu Phe Phe Val Ser Trp Tyr Met Trp Val Ala His Lys  
195 200 205

Ser Phe Leu Trp Ala Ala Val Trp Gly Phe Ala Gly Ser His Val Gly  
210 215 220

Leu Ser Ile Gln His Asp Gly Asn His Gly Ala Phe Ser Arg Asn Thr  
225 230 235 240

Leu Val Asn Arg Leu Ala Gly Trp Gly Met Asp Leu Ile Gly Ala Ser  
245 250 255

Ser Thr Val Trp Glu Tyr Gln His Val Ile Gly His His Gln Tyr Thr  
260 265 270

Asn Leu Val Ser Asp Thr Leu Phe Ser Leu Pro Glu Asn Asp Pro Asp  
 275 280 285

Val Phe Ser Ser Tyr Pro Leu Met Arg Met His Pro Asp Thr Ala Trp  
 290 295 300

Gln Pro His His Arg Phe Gln His Leu Phe Ala Phe Pro Leu Phe Ala  
 305 310 315 320

Leu Met Thr Ile Ser Lys Val Leu Thr Ser Asp Phe Ala Val Cys Leu  
 325 330 335

Ser Met Lys Lys Gly Ser Ile Asp Cys Ser Ser Arg Leu Val Pro Leu  
 340 345 350

Glu Gly Gln Leu Leu Phe Trp Gly Ala Lys Leu Ala Asn Phe Leu Leu  
 355 360 365

Gln Ile Val Leu Pro Cys Tyr Leu His Gly Thr Ala Met Gly Leu Ala  
 370 375 380

Leu Phe Ser Val Ala His Leu Val Ser Gly Glu Tyr Leu Ala Ile Cys  
 385 390 395 400

Phe Ile Ile Asn His Ile Ser Glu Ser Cys Glu Phe Met Asn Thr Ser  
 405 410 415

Phe Gln Thr Ala Ala Arg Arg Thr Glu Met Leu Gln Ala Ala His Gln  
 420 425 430

Ala Ala Glu Ala Lys Lys Val Lys Pro Thr Pro Pro Pro Asn Asp Trp  
 435 440 445

Ala Val Thr Gln Val Gln Cys Cys Val Asn Trp Arg Ser Gly Gly Val  
 450 455 460

Leu Ala Asn His Leu Ser Gly Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His  
 465 470 475 480

Leu Phe Pro Ser Ile Ser His Ala Asn Tyr Pro Thr Ile Ala Pro Val  
 485 490 495

Val Lys Glu Val Cys Glu Glu Tyr Gly Leu Pro Tyr Lys Asn Tyr Val  
 500 505 510

Thr Phe Trp Asp Ala Val Cys Gly Met Val Gln His Leu Arg Leu Met  
 515 520 525

Gly Ala Pro Pro Val Pro Thr Asn Gly Asp Lys Lys Ser  
 530 535 540

<210> 41  
 <211> 1548  
 <212> DNA  
 <213> Thraustochytrium

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1548)  
 <223> Delta-4-Desaturase

<400> 41  
 atg acg gtc ggg ttt gac gaa acg gtg act atg gac acg gtc cgc aac 48  
 Met Thr Val Gly Phe Asp Glu Thr Val Thr Met Asp Thr Val Arg Asn  
 1 5 10 15  
 cac aac atg ccg gac gac gcc tgg tgc gcg atc cac ggc acc gtg tac 96  
 His Asn Met Pro Asp Asp Ala Trp Cys Ala Ile His Gly Thr Val Tyr  
 20 25 30  
 gac atc acc aag ttc agc aag gtg cac ccc ggc ggg gac atc atc atg 144  
 Asp Ile Thr Lys Phe Ser Lys Val His Pro Gly Gly Asp Ile Ile Met  
 35 40 45  
 ctg gcc gct ggc aag gag gcc acc atc ctg ttc gag acc tac cac atc 192  
 Leu Ala Ala Gly Lys Glu Ala Thr Ile Leu Phe Glu Thr Tyr His Ile  
 50 55 60  
 aag ggc gtc ccg gac gcg gtg ctg cgc aag tac aag gtc ggc aag ctc 240  
 Lys Gly Val Pro Asp Ala Val Leu Arg Lys Tyr Lys Val Gly Lys Leu  
 65 70 75 80  
 ccc cag ggc aag aag ggc gaa acg agc cac atg ccc acc ggc ctc gac 288  
 Pro Gln Gly Lys Lys Gly Glu Thr Ser His Met Pro Thr Gly Leu Asp  
 85 90 95  
 tcg gcc tcc tac tac tcg tgg gac agc gag ttt tac agg gtg ctc cgc 336  
 Ser Ala Ser Tyr Tyr Ser Trp Asp Ser Glu Phe Tyr Arg Val Leu Arg  
 100 105 110  
 gag cgc gtc gcc aag aag ctg gcc gag ccc ggc ctc atg cag cgc gcg 384  
 Glu Arg Val Ala Lys Lys Leu Ala Glu Pro Gly Leu Met Gln Arg Ala  
 115 120 125  
 cgc atg gag ctc tgg gcc aag gcg atc ttc ctc ctg gca ggt ttc tgg 432  
 Arg Met Glu Leu Trp Ala Lys Ala Ile Phe Leu Leu Ala Gly Phe Trp  
 130 135 140  
 ggc tcc ctt tac gcc atg tgc gtg cta gac ccg cac ggc ggt gcc atg 480  
 Gly Ser Leu Tyr Ala Met Cys Val Leu Asp Pro His Gly Gly Ala Met  
 145 150 155 160  
 gta gcc gcc gtt acg ctc ggc gtg ttc gct gcc ttt gtc gga act tgc 528  
 Val Ala Ala Val Thr Leu Gly Val Phe Ala Ala Phe Val Gly Thr Cys  
 165 170 175  
 atc cag cac gac ggc agc cac ggc gcc ttc tcc aag tcg cga ttc atg 576  
 Ile Gln His Asp Gly Ser His Gly Ala Phe Ser Lys Ser Arg Phe Met  
 180 185 190  
 aac aag gcg gcg ggc tgg acc ctc gac atg atc ggc gcg agt gcg atg 624  
 Asn Lys Ala Ala Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Met  
 195 200 205  
 acc tgg gag atg cag cac gtt ctt ggc cac cac ccg tac acc aac ctc 672  
 Thr Trp Glu Met Gln His Val Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Leu

210	215	220	
atc gag atg gag aac ggt ttg gcc aag gtc aag ggc gcc gac gtc gac			720
Ile Glu Met Glu Asn Gly Leu Ala Lys Val Lys Gly Ala Asp Val Asp			
225	230	235	240
ccg aag aag gtc gac cag gag agc gac ccg gac gtc ttc agt acg tac			768
Pro Lys Lys Val Asp Gln Glu Ser Asp Pro Asp Val Phe Ser Thr Tyr			
	245	250	255
ccg atg ctt cgc ctg cac ccg tgg cac cgc cag cgg ttt tac cac aag			816
Pro Met Leu Arg Leu His Pro Trp His Arg Gln Arg Phe Tyr His Lys			
	260	265	270
ttc cag cac ctg tac gcc ccg ttt atc ttt ggg tct atg acg att aac			864
Phe Gln His Leu Tyr Ala Pro Phe Ile Phe Gly Ser Met Thr Ile Asn			
	275	280	285
aag gtg att tcc cag gat gtc ggg gtt gtg ctg cgc aag cgc ctg ttc			912
Lys Val Ile Ser Gln Asp Val Gly Val Val Leu Arg Lys Arg Leu Phe			
	290	295	300
cag atc gac gcc aac tgc cgg tat ggc agc ccc tgg tac gtg gcc cgc			960
Gln Ile Asp Ala Asn Cys Arg Tyr Gly Ser Pro Trp Tyr Val Ala Arg			
	305	310	315
ttc tgg atc atg aag ctc ctc acc acg ctc tac atg gtg gcg ctt ccc			1008
Phe Trp Ile Met Lys Leu Leu Thr Thr Leu Tyr Met Val Ala Leu Pro			
	325	330	335
atg tac atg cag ggg cct gct cag ggc ttg aag ctt ttc ttc atg gcc			1056
Met Tyr Met Gln Gly Pro Ala Gln Gly Leu Lys Leu Phe Phe Met Ala			
	340	345	350
cac ttc acc tgc gga gag gtc ctc gcc acc atg ttt att gtc aac cac			1104
His Phe Thr Cys Gly Glu Val Leu Ala Thr Met Phe Ile Val Asn His			
	355	360	365
atc atc gag ggc gtc agc tac gct tcc aag gac gcg gtc aag ggc gtc			1152
Ile Ile Glu Gly Val Ser Tyr Ala Ser Lys Asp Ala Val Lys Gly Val			
	370	375	380
atg gct ccg ccg cgc act gtg cac ggt gtc acc ccg atg cag gtg acg			1200
Met Ala Pro Pro Arg Thr Val His Gly Val Thr Pro Met Gln Val Thr			
	385	390	395
caa aag gcg ctc agt gcg gcc gag tcg gcc aag tcg gac gcc gac aag			1248
Gln Lys Ala Leu Ser Ala Ala Glu Ser Ala Lys Ser Asp Ala Asp Lys			
	405	410	415
acg acc atg atc ccc ctc aac gac tgg gcc gct gtg cag tgc cag acc			1296
Thr Thr Met Ile Pro Leu Asn Asp Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr			
	420	425	430
tct gtg aac tgg gct gtc ggg tcg tgg ttt tgg aac cac ttt tcg ggc			1344
Ser Val Asn Trp Ala Val Gly Ser Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly			
	435	440	445
ggc ctc aac cac cag att gag cac cac tgc ttc ccc caa aac ccc cac			1392
Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His Cys Phe Pro Gln Asn Pro His			
	450	455	460
acg gtc aac gtc tac atc tcg ggc atc gtc aag gag acc tgc gaa gaa			1440
Thr Val Asn Val Tyr Ile Ser Gly Ile Val Lys Glu Thr Cys Glu Glu			
	465	470	475
tac ggc gtg ccg tac cag gct gag atc agc ctc ttc tct gcc tat ttc			1488
Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ala Glu Ile Ser Leu Phe Ser Ala Tyr Phe			

1536

1548

```
<210> 42
<211> 515
<212> PRT
<213> Thraustochytrium
```

**<400> 42**

Met Thr Val Gly Phe Asp Glu Thr Val Thr Met Asp Thr Val Arg Asn  
1 5 10 15

His Asn Met Pro Asp Asp Ala Trp Cys Ala Ile His Gly Thr Val Tyr  
20 25 30

Asp Ile Thr Lys Phe Ser Lys Val His Pro Gly Gly Asp Ile Ile Met  
35 40 45

Leu Ala Ala Gly Lys Glu Ala Thr Ile Leu Phe Glu Thr Tyr His Ile  
50 55 60

Lys Gly Val Pro Asp Ala Val Leu Arg Lys Tyr Lys Val Gly Lys Leu  
65                      70                      75                      80

Pro Gln Gly Lys Lys Gly Glu Thr Ser His Met Pro Thr Gly Leu Asp  
85 90 95

Ser Ala Ser Tyr Tyr Ser Trp Asp Ser Glu Phe Tyr Arg Val Leu Arg  
100 105 110

Glu Arg Val Ala Lys Lys Leu Ala Glu Pro Gly Leu Met Gln Arg Ala  
115 120 125

Arg Met Glu Leu Trp Ala Lys Ala Ile Phe Leu Leu Ala Gly Phe Trp  
130 135 140

Gly Ser Leu Tyr Ala Met Cys Val Leu Asp Pro His Gly Gly Ala Met  
145 150 155 160

Val Ala Ala Val Thr Leu Gly Val Phe Ala Ala Phe Val Gly Thr Cys  
165 170 175

Ile Gln His Asp Gly Ser His Gly Ala Phe Ser Lys Ser Arg Phe Met  
180 185 190

Asn Lys Ala Ala Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Met  
195 . 200 205

Thr Trp Glu Met Gln His Val Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Leu  
 210 215 220  
 Ile Glu Met Glu Asn Gly Leu Ala Lys Val Lys Gly Ala Asp Val Asp  
 225 230 235 240  
 Pro Lys Lys Val Asp Gln Glu Ser Asp Pro Asp Val Phe Ser Thr Tyr  
 245 250 255  
 Pro Met Leu Arg Leu His Pro Trp His Arg Gln Arg Phe Tyr His Lys  
 260 265 270  
 Phe Gln His Leu Tyr Ala Pro Phe Ile Phe Gly Ser Met Thr Ile Asn  
 275 280 285  
 Lys Val Ile Ser Gln Asp Val Gly Val Val Leu Arg Lys Arg Leu Phe  
 290 295 300  
 Gln Ile Asp Ala Asn Cys Arg Tyr Gly Ser Pro Trp Tyr Val Ala Arg  
 305 310 315 320  
 Phe Trp Ile Met Lys Leu Leu Thr Thr Leu Tyr Met Val Ala Leu Pro  
 325 330 335  
 Met Tyr Met Gln Gly Pro Ala Gln Gly Leu Lys Leu Phe Phe Met Ala  
 340 345 350  
 His Phe Thr Cys Gly Glu Val Leu Ala Thr Met Phe Ile Val Asn His  
 355 360 365  
 Ile Ile Glu Gly Val Ser Tyr Ala Ser Lys Asp Ala Val Lys Gly Val  
 370 375 380  
 Met Ala Pro Pro Arg Thr Val His Gly Val Thr Pro Met Gln Val Thr  
 385 390 395 400  
 Gln Lys Ala Leu Ser Ala Ala Glu Ser Ala Lys Ser Asp Ala Asp Lys  
 405 410 415  
 Thr Thr Met Ile Pro Leu Asn Asp Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr  
 420 425 430  
 Ser Val Asn Trp Ala Val Gly Ser Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly  
 435 440 445  
 Gly Leu Asn His Gln Ile Glu His His Cys Phe Pro Gln Asn Pro His  
 450 455 460  
 Thr Val Asn Val Tyr Ile Ser Gly Ile Val Lys Glu Thr Cys Glu Glu  
 465 470 475 480

Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ala Glu Ile Ser Leu Phe Ser Ala Tyr Phe  
 485 490 495

Lys Met Leu Ser His Leu Arg Thr Leu Gly Asn Glu Asp Leu Thr Ala  
 500 505 510

Trp Ser Thr  
 515

<210> 43  
 <211> 960  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(960)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 43  
 atg gtg ttg tac aat gtg gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg 48  
 Met Val Leu Tyr Asn Val Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val  
 1 5 10 15  
 tat gcg att gtg gat gcg gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga 96  
 Tyr Ala Ile Val Asp Ala Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly  
 20 25 30  
 agt aga agt ttg gtt ggg gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg 144  
 Ser Arg Ser Leu Val Gly Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala  
 35 40 45  
 gtg tgg gtt cat tat tgt gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat 192  
 Val Trp Val His Tyr Cys Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr  
 50 55 60  
 ttt atg gtg ttg agg ggg aaa atg gac cag atg gta ctt ggt gaa gtt 240  
 Phe Met Val Leu Arg Gly Lys Met Asp Gln Met Val Leu Gly Glu Val  
 65 70 75 80  
 ggt ggc agt gtg tgg tgt ggc gtt gga tat atg gat atg gag aag atg 288  
 Gly Gly Ser Val Trp Cys Gly Val Gly Tyr Met Asp Met Glu Lys Met  
 85 90 95  
 ata cta ctc agc ttt gga gtg cat cgg tct gct cag gga acg ggg aag 336  
 Ile Leu Leu Ser Phe Gly Val His Arg Ser Ala Gln Gly Thr Gly Lys  
 100 105 110  
 gct ttc acc aac aac gtt acc aat cca cat ctc acg ctt cca cct cat 384  
 Ala Phe Thr Asn Asn Val Thr Asn Pro His Leu Thr Leu Pro Pro His  
 115 120 125  
 tct aca aaa aca aaa aaa cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac 432  
 Ser Thr Lys Thr Lys Lys Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His  
 130 135 140  
 acg acc ata gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt 480  
 Thr Thr Ile Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly  
 145 150 155 160  
 gga gac att tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc 528  
 Gly Asp Ile Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu

WO 2005/012316

73

165 170 175  
 atg tat tcc tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg 576  
 Met Tyr Ser Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp  
 180 185 190  
 aaa cga tac ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg 624  
 Lys Arg Tyr Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val  
 195 200 205  
 gtt tat acg ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat 672  
 Val Tyr Thr Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His  
 210 215 220  
 gga gcg gat gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt 720  
 Gly Ala Asp Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys  
 225 230 235 240  
 gga gtg cag gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc 768  
 Gly Val Gln Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile  
 245 250 255  
 ttt tat aaa cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat 816  
 Phe Tyr Lys Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp  
 260 265 270  
 agc aag aag aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct 864  
 Ser Lys Lys Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala  
 275 280 285  
 atg aag gat ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg 912  
 Met Lys Asp Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala  
 290 295 300  
 aag gat gct gga aag ttg gtg gct acg aga gta agg tgt aag gtg taa 960  
 Lys Asp Ala Gly Lys Leu Val Ala Thr Arg Val Arg Cys Lys Val  
 305 310 315

<210> 44  
 <211> 319  
 <212> PRT  
 <213> Thalassiosira pseudonana

<400> 44

Met Val Leu Tyr Asn Val Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val  
 1 5 10 15  
 Tyr Ala Ile Val Asp Ala Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly  
 20 25 30  
 Ser Arg Ser Leu Val Gly Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala  
 35 40 45  
 Val Trp Val His Tyr Cys Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr  
 50 55 60  
 Phe Met Val Leu Arg Gly Lys Met Asp Gln Met Val Leu Gly Glu Val  
 65 70 75 80  
 Gly Gly Ser Val Trp Cys Gly Val Gly Tyr Met Asp Met Glu Lys Met  
 85 90 95



Ile Leu Leu Ser Phe Gly Val His Arg Ser Ala Gln Gly Thr Gly Lys  
 100 105 110

Ala Phe Thr Asn Asn Val Thr Asn Pro His Leu Thr Leu Pro Pro His  
 115 120 125

Ser Thr Lys Thr Lys Lys Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His  
 130 135 140

Thr Thr Ile Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly  
 145 150 155 160

Gly Asp Ile Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu  
 165 170 175

Met Tyr Ser Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp  
 180 185 190

Lys Arg Tyr Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val  
 195 200 205

Val Tyr Thr Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His  
 210 215 220

Gly Ala Asp Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys  
 225 230 235 240

Gly Val Gln Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile  
 245 250 255

Phe Tyr Lys Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp  
 260 265 270

Ser Lys Lys Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala  
 275 280 285

Met Lys Asp Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala  
 290 295 300

Lys Asp Ala Gly Lys Leu Val Ala Thr Arg Val Arg Cys Lys Val  
 305 310 315

<210> 45  
 <211> 819  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(819)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 45  
 atg gac gcc tac aac gct gca atg gat aag atc ggt gcc gcc atc atc 48  
 Met Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Met Asp Lys Ile Gly Ala Ala Ile Ile 15  
 1 5 10 15  
 gat tgg tct gat ccc gat gga aag ttc cgt gcc gat aga gag gac tgg 96  
 Asp Trp Ser Asp Pro Asp Gly Lys Phe Arg Ala Asp Arg Glu Asp Trp 30  
 20 25 30  
 tgg ctc tgc gac ttc cgt agc gcc atc acc atc gcc ctc atc tac atc 144  
 Trp Leu Cys Asp Phe Arg Ser Ala Ile Thr Ile Ala Leu Ile Tyr Ile 45  
 35 40 45  
 gcc ttc gtc atc ctc ggt tcc gcc gtc atg caa tcc ctc ccc gca atg 192  
 Ala Phe Val Ile Leu Gly Ser Ala Val Met Gln Ser Leu Pro Ala Met 60  
 50 55 60  
 gat ccc tac ccc atc aaa ttc ctc tac aac gtc tcc caa atc ttc ctt 240  
 Asp Pro Tyr Pro Ile Lys Phe Leu Tyr Asn Val Ser Gln Ile Phe Leu 80  
 65 70 75 80  
 tgt gcc tac atg act gtc gag gcg gga ttt ttg gcc tac cgc aat gga 288  
 Cys Ala Tyr Met Thr Val Glu Ala Gly Phe Leu Ala Tyr Arg Asn Gly 95  
 85 90 95  
 tat acc gtc atg cct tgc aat cat ttc aat gtg aat gat cct ccc gtg 336  
 Tyr Thr Val Met Pro Cys Asn His Phe Asn Val Asn Asp Pro Pro Val 110  
 100 105 110  
 gcg aat ctt ctt tgg ttg ttt tat att tcc aag gtg tgg gac ttt tgg 384  
 Ala Asn Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Ile Ser Lys Val Trp Asp Phe Trp 125  
 115 120 125  
 gat acc att ttc att gtg ttg ggg aag aag tgg cgt caa tta tct ttc 432  
 Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys Trp Arg Gln Leu Ser Phe 140  
 130 135 140  
 ttg cat gta tac cat cac acc acc atc ttt cta ttc tat tgg ctg aat 480  
 Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe Leu Phe Tyr Trp Leu Asn 160  
 145 150 155 160  
 gcc aat gtc ttg tac gat ggt gac atc ttc ctt acc atc ttg ctc aat 528  
 Ala Asn Val Leu Tyr Asp Gly Asp Ile Phe Leu Thr Ile Leu Leu Asn 175  
 165 170 175  
 gga ttc atc cac acg gtg atg tac acg tat tac ttc atc tgt atg cat 576  
 Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr Phe Ile Cys Met His 190  
 180 185 190  
 acc aaa gat tcc aag acg ggc aag agt ctt cct ata tgg tgg aag tcg 624  
 Thr Lys Asp Ser Lys Thr Gly Lys Ser Leu Pro Ile Trp Trp Lys Ser 205  
 195 200 205  
 agt ttg acg gcg ttt cag ttg ttg caa ttc act atc atg atg agt cag 672  
 Ser Leu Thr Ala Phe Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ile Met Met Ser Gln 220  
 210 215 220  
 gct acc tac ctt gtc ttc cac ggg tgt gat aag gtg tcg ctt cgt atc 720  
 Ala Thr Tyr Leu Val Phe His Gly Cys Asp Lys Val Ser Leu Arg Ile 240  
 225 230 235 240  
 acg att gtg tac ttt gtg tcc ctt ttg agt ttg ttc ttc ctt ttt gct 768  
 Thr Ile Val Tyr Phe Val Ser Leu Leu Ser Leu Phe Phe Leu Phe Ala 255  
 245 250 255  
 cag ttc ttt gtg caa tca tac atg gca ccc aaa aag aag aag agt gct 816  
 Gln Phe Phe Val Gln Ser Tyr Met Ala Pro Lys Lys Lys Lys Ser Ala

260 265 270 819

tag

<210> 46  
 <211> 272  
 <212> PRT  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*  
 <400> 46

Met Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Met Asp Lys Ile Gly Ala Ala Ile Ile  
 1 5 10 15

Asp Trp Ser Asp Pro Asp Gly Lys Phe Arg Ala Asp Arg Glu Asp Trp  
 20 25 30

Trp Leu Cys Asp Phe Arg Ser Ala Ile Thr Ile Ala Leu Ile Tyr Ile  
 35 40 45

Ala Phe Val Ile Leu Gly Ser Ala Val Met Gln Ser Leu Pro Ala Met  
 50 55 60

Asp Pro Tyr Pro Ile Lys Phe Leu Tyr Asn Val Ser Gln Ile Phe Leu  
 65 70 75 80

Cys Ala Tyr Met Thr Val Glu Ala Gly Phe Leu Ala Tyr Arg Asn Gly  
 85 90 95

Tyr Thr Val Met Pro Cys Asn His Phe Asn Val Asn Asp Pro Pro Val  
 100 105 110

Ala Asn Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Ile Ser Lys Val Trp Asp Phe Trp  
 115 120 125

Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys Trp Arg Gln Leu Ser Phe  
 130 135 140

Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe Leu Phe Tyr Trp Leu Asn  
 145 150 155 160

Ala Asn Val Leu Tyr Asp Gly Asp Ile Phe Leu Thr Ile Leu Leu Asn  
 165 170 175

Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr Tyr Phe Ile Cys Met His  
 180 185 190

Thr Lys Asp Ser Lys Thr Gly Lys Ser Leu Pro Ile Trp Trp Lys Ser  
 195 200 205

Ser Leu Thr Ala Phe Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ile Met Met Ser Gln  
 210 215 220

Ala Thr Tyr Leu Val Phe His Gly Cys Asp Lys Val Ser Leu Arg Ile  
 225 230 235 240

Thr Ile Val Tyr Phe Val Ser Leu Leu Ser Leu Phe Phe Leu Phe Ala  
 245 250 255

Gln Phe Phe Val Gln Ser Tyr Met Ala Pro Lys Lys Lys Lys Ser Ala  
 260 265 270

<210> 47  
 <211> 936  
 <212> DNA  
 <213> Crypthecodinium cohnii

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(936)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 47  
 atg tct gcc ttc atg act ctc cca cag gct ctc tcc gat gtg acc tcg 48  
 Met Ser Ala Phe Met Thr Leu Pro Gln Ala Leu Ser Asp Val Thr Ser  
 1 5 10 15  
 gcc ttg gtc acg ctg gga aag gat gtc tcc agc cct tca gct ttt caa 96  
 Ala Leu Val Thr Leu Gly Lys Asp Val Ser Ser Pro Ser Ala Phe Gln  
 20 25 30  
 gct gtc act ggc ttc tgc agg gag cag tgg ggg att ccg aca gta ttc 144  
 Ala Val Thr Gly Phe Cys Arg Glu Gln Trp Gly Ile Pro Thr Val Phe  
 35 40 45  
 tgc ctg ggc tac ttg gcc atg gtc tac gcg gcc aga aga ccc ctc ccg 192  
 Cys Leu Gly Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Ala Arg Arg Pro Leu Pro  
 50 55 60  
 cag cac ggc tac atg gtt gcg gtg gac cgt tgc ttc gct gct tgg aac 240  
 Gln His Gly Tyr Met Val Ala Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn  
 65 70 75 80  
 ttg gct ctc tct gtc ttc agc act tgg ggc ttc tac cac atg gct gtc 288  
 Leu Ala Leu Ser Val Phe Ser Thr Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val  
 85 90 95  
 ggg ctc tac aac atg aca gag acg agg ggc ttg caa ttc acc atc tgc 336  
 Gly Leu Tyr Asn Met Thr Glu Thr Arg Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys  
 100 105 110  
 ggt tcg act ggg gag ctc gtg cag aac ctt cag act ggc cca acc gct 384  
 Gly Ser Thr Gly Glu Leu Val Gln Asn Leu Gln Thr Gly Pro Thr Ala  
 115 120 125  
 ctg gcg ctc tgc ctc ttc tgc ttc agc aag atc ccc gag ttg atg gac 432  
 Leu Ala Leu Cys Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Met Asp  
 130 135 140  
 acg gtg ttt ctc atc ctg aag gcc aag aag gtc cgc ttc ttg cag tgg 480  
 Thr Val Phe Leu Ile Leu Lys Ala Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp  
 145 150 155 160  
 tac cac cat gcc aca gtc atg ctc ttc tgt tgg ctc gcc ctc gcg acg 528  
 Tyr His His Ala Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Leu Ala Leu Ala Thr  
 165 170 175

gag tac act cct ggc ttg tgg ttt gcg gcg acg aac tac ttc gtg cac 576  
 Glu Tyr Thr Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His  
 180 185 190

tcc atc atg tac atg tac ttc ttc ctc atg acc ttc aag tcg gcc gcg 624  
 Ser Ile Met Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Ser Ala Ala  
 195 200 205

aag gtg gtg aag ccc atc gcc cct ctc atc aca gtt atc cag att gct 672  
 Lys Val Val Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Val Ile Gln Ile Ala  
 210 215 220

cag atg gtc tgg ggc ctc atc gtc aac ggc atc gcc atc acc acc ttc 720  
 Gln Met Val Trp Gly Leu Ile Val Asn Gly Ile Ala Ile Thr Thr Phe  
 225 230 235 240

ttc acg act ggt gcc tgc cag atc cag tct gtg act gtg tat tcg gcc 768  
 Phe Thr Thr Gly Ala Cys Gln Ile Gln Ser Val Thr Val Tyr Ser Ala  
 245 250 255

atc atc atg tac gct tcg tac ttc tac ctg ttc tcc cag ctc ttc ttc 816  
 Ile Ile Met Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Ser Gln Leu Phe Phe  
 260 265 270

gag gcc cat ggt gcc gct ggc aag aac aag aag aag ttg acc cgc gag 864  
 Glu Ala His Gly Ala Ala Gly Lys Asn Lys Lys Lys Leu Thr Arg Glu  
 275 280 285

ctc tct cga aaa atc tcg gag gct ctc ctg aac acc ggt gac gag gtt 912  
 Leu Ser Arg Lys Ile Ser Glu Ala Leu Leu Asn Thr Gly Asp Glu Val  
 290 295 300

tcc aag cac ctg aag gtg aat tga 936  
 Ser Lys His Leu Lys Val Asn  
 305 310

<210> 48  
 <211> 311  
 <212> PRT  
 <213> *Crypthecodinium cohnii*  
 <400> 48

Met Ser Ala Phe Met Thr Leu Pro Gln Ala Leu Ser Asp Val Thr Ser  
 1 5 10 15

Ala Leu Val Thr Leu Gly Lys Asp Val Ser Ser Pro Ser Ala Phe Gln  
 20 25 30

Ala Val Thr Gly Phe Cys Arg Glu Gln Trp Gly Ile Pro Thr Val Phe  
 35 40 45

Cys Leu Gly Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Ala Arg Arg Pro Leu Pro  
 50 55 60

Gln His Gly Tyr Met Val Ala Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn  
 65 70 75 80

Leu Ala Leu Ser Val Phe Ser Thr Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val  
 85 90 95

Gly Leu Tyr Asn Met Thr Glu Thr Arg Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys  
 100 105 110  
 Gly Ser Thr Gly Glu Leu Val Gln Asn Leu Gln Thr Gly Pro Thr Ala  
 115 120 125  
 Leu Ala Leu Cys Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Met Asp  
 130 135 140  
 Thr Val Phe Leu Ile Leu Lys Ala Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp  
 145 150 155 160  
 Tyr His His Ala Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Leu Ala Leu Ala Thr  
 165 170 175  
 Glu Tyr Thr Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His  
 180 185 190  
 Ser Ile Met Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Ser Ala Ala  
 195 200 205  
 Lys Val Val Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Val Ile Gln Ile Ala  
 210 215 220  
 Gln Met Val Trp Gly Leu Ile Val Asn Gly Ile Ala Ile Thr Thr Phe  
 225 230 235 240  
 Phe Thr Thr Gly Ala Cys Gln Ile Gln Ser Val Thr Val Tyr Ser Ala  
 245 250 255  
 Ile Ile Met Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Ser Gln Leu Phe Phe  
 260 265 270  
 Glu Ala His Gly Ala Ala Gly Lys Asn Lys Lys Lys Leu Thr Arg Glu  
 275 280 285  
 Leu Ser Arg Lys Ile Ser Glu Ala Leu Leu Asn Thr Gly Asp Glu Val  
 290 295 300  
 Ser Lys His Leu Lys Val Asn  
 305 310

<210> 49  
 <211> 927  
 <212> DNA  
 <213> Crypthecodinium cohnii

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(927)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 49

atg gct tcc tac caa caa gca ttc tcc gaa ttg gct aga gct ttg tcc Met Ala Ser Tyr Gln Gln Ala Phe Ser Glu Leu Ala Arg Ala Leu Ser 1 5 10 15	48
act ttg aac cac gac ttc tcc agc gtc gag cca ttc aaa gtc gtg acg Thr Leu Asn His Asp Phe Ser Ser Val Glu Pro Phe Lys Val Val Thr 20 25 30	96
cag ttc tgc agg gac cag tgg gcg atc ccg aca gtc ttt tgc atc ggt Gln Phe Cys Arg Asp Gln Trp Ala Ile Pro Thr Val Phe Cys Ile Gly 35 40 45	144
tac ttg gca atg gtc tac gcc acg cga aga cct atc gcg aag cac ccc Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Thr Arg Arg Pro Ile Ala Lys His Pro 50 55 60	192
tac atg tct ctc gtg gat cgc tgc ttt gcg gcc tgg aac ttg ggc ctc Tyr Met Ser Leu Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn Leu Gly Leu 65 70 75 80	240
tgc ctc ttc agt tgc tgg ggc ttc tac cac atg gca gtg gga ctc tcc Ser Leu Phe Ser Cys Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val Gly Leu Ser 85 90 95	288
cac acc act tgg aat ttc ggg ctc cag ttc acc atc tgc ggc agc acc His Thr Thr Trp Asn Phe Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys Gly Ser Thr 100 105 110	336
acg gag ctt gtg aat ggc ttc cag aag ggc ccg gcg gcc ctc gcc ctc Thr Glu Leu Val Asn Gly Phe Gln Lys Gly Pro Ala Ala Leu Ala Leu 115 120 125	384
atc ctg ttc tgc ttc tcc aag atc ccg gag ttg ggc gac acc gtc ttc Ile Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Gly Asp Thr Val Phe 130 135 140	432
ttg atc ttg aag gga aag aag gtc cgc ttc ttg cag tgg tac cac cac Leu Ile Leu Lys Gly Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp Tyr His His 145 150 155 160	480
acg acc gtg atg ctc ttc tgt tgg atg gcc ttg gcg act gag tac act Thr Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Met Ala Leu Ala Thr Glu Tyr Thr 165 170 175	528
cct gga ttg tgg ttc gcg gcc acg aac tac ttc gtg cac tcc atc atg Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His Ser Ile Met 180 185 190	576
tac atg tac ttc ttc ctc atg acc ttc aag acg gcc gcc ggc atc atc Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Thr Ala Ala Gly Ile Ile 195 200 205	624
aag ccc atc gcg cct ctc atc acc atc atc cag atc tcc cag atg gtc Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Ile Ile Gln Ile Ser Gln Met Val 210 215 220	672
tgg ggc ttg gtc gtg aac gcc atc gcc gtc ggc acc ttc ttc acc aca Trp Gly Leu Val Val Asn Ala Ile Ala Val Gly Thr Phe Phe Thr Thr 225 230 235 240	720
ggc aac tgc cag atc cag gca gtg aca gtc tac tcc gcc atc gtg atg Gly Asn Cys Gln Ile Gln Ala Val Thr Val Tyr Ser Ala Ile Val Met 245 250 255	768
tac gcc tcc tac ttc tac ctc ttc ggc cag ctc ttc ttc gag gcc cag Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Gly Gln Leu Phe Phe Glu Ala Gln 260 265 270	816

81

ggt tcg gct gga aag gac aag aag aag ttg gcc cga gag ctg agc cga 864  
 Gly Ser Ala Gly Lys Asp Lys Lys Lys Leu Ala Arg Glu Leu Ser Arg  
 275 280 285  
 aag gtc tcg cgg gct ctc aca gca acg ggc gaa gag gtg tcg aag cac 912  
 Lys Val Ser Arg Ala Leu Thr Ala Thr Gly Glu Glu Val Ser Lys His  
 290 295 300  
 atg aag gtg aat tga 927  
 Met Lys Val Asn  
 305

<210> 50  
 <211> 308  
 <212> PRT  
 <213> Crypthecodinium cohnii

<400> 50

Met Ala Ser Tyr Gln Gln Ala Phe Ser Glu Leu Ala Arg Ala Leu Ser  
 1 5 10 15

Thr Leu Asn His Asp Phe Ser Ser Val Glu Pro Phe Lys Val Val Thr  
 20 25 30

Gln Phe Cys Arg Asp Gln Trp Ala Ile Pro Thr Val Phe Cys Ile Gly  
 35 40 45

Tyr Leu Ala Met Val Tyr Ala Thr Arg Arg Pro Ile Ala Lys His Pro  
 50 55 60

Tyr Met Ser Leu Val Asp Arg Cys Phe Ala Ala Trp Asn Leu Gly Leu  
 65 70 75 80

Ser Leu Phe Ser Cys Trp Gly Phe Tyr His Met Ala Val Gly Leu Ser  
 85 90 95

His Thr Thr Trp Asn Phe Gly Leu Gln Phe Thr Ile Cys Gly Ser Thr  
 100 105 110

Thr Glu Leu Val Asn Gly Phe Gln Lys Gly Pro Ala Ala Leu Ala Leu  
 115 120 125

Ile Leu Phe Cys Phe Ser Lys Ile Pro Glu Leu Gly Asp Thr Val Phe  
 130 135 140

Leu Ile Leu Lys Gly Lys Lys Val Arg Phe Leu Gln Trp Tyr His His  
 145 150 155 160

Thr Thr Val Met Leu Phe Cys Trp Met Ala Leu Ala Thr Glu Tyr Thr  
 165 170 175

Pro Gly Leu Trp Phe Ala Ala Thr Asn Tyr Phe Val His Ser Ile Met  
 180 185 190



Tyr Met Tyr Phe Phe Leu Met Thr Phe Lys Thr Ala Ala Gly Ile Ile  
195 200 205

Lys Pro Ile Ala Pro Leu Ile Thr Ile Ile Gln Ile Ser Gln Met Val  
210 215 220

Trp Gly Leu Val Val Asn Ala Ile Ala Val Gly Thr Phe Phe Thr Thr  
225 230 235 240

Gly Asn Cys Gln Ile Gln Ala Val Thr Val Tyr Ser Ala Ile Val Met  
245 250 255

Tyr Ala Ser Tyr Phe Tyr Leu Phe Gly Gln Leu Phe Phe Glu Ala Gln  
260 265 270

Gly Ser Ala Gly Lys Asp Lys Lys Lys Leu Ala Arg Glu Leu Ser Arg  
275 280 285

Lys Val Ser Arg Ala Leu Thr Ala Thr Gly Glu Glu Val Ser Lys His  
290 295 300

Met Lys Val Asn  
305

<210> 51  
<211> 795  
<212> DNA  
<213> Oncorhynchus mykiss

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(795)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 51  
atg gct tca aca tgg caa agc gtt cag tcc atg cgc cag tgg att tta 48  
Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu  
1 5 10 15  
gag aat gga gat aaa agg aca gac cca tgg cta ctg gtc tac tcc cct 96  
Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro  
20 25 30  
atg cca gtg gcc att ata ttc ctc ctc tat ctt ggt gtg gtc tgg gct 144  
Met Pro Val Ala Ile Ile Phe Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala  
35 40 45  
ggg ccc aag ctg atg aaa cgc agg gaa cca gtt gat ctc aag gct gta 192  
Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val  
50 55 60  
ctc att gtc tac aac ttc gcc atg gtc tgc ctg tct gtc tac atg ttc 240  
Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe  
65 70 75 80  
cat gag ttc ttg gtc acg tcc ttg ctg tct aac tac agt tac ctg tgt 288  
His Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys  
85 90 95

caa cct gtg gat tac agc act agt cca ctg gcg atg agg atg gcc aaa 336  
 Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys  
 100 105 110

gta tgc tgg tgg ttt ttc ttc tcc aag gtc ata gaa ttg gct gac acg 384  
 Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr  
 115 120 125

gtg ttc ttc atc ctg agg aag aag aac agt cag ctg act ttc ctg cat 432  
 Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His  
 130 135 140

gtc tat cac cat ggc acc atg atc ttc aac tgg tgg gca ggg gtc aag 480  
 Val Tyr His His Gly Thr Met Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys  
 145 150 155 160

tat ctg gct gga ggc caa tgc ttc ttc atc ggc ctg ctc aat acc ttt 528  
 Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe  
 165 170 175

gtg cac atc gtg atg tac tct tac tac gga ctg gct gcc ctg ggg cct 576  
 Val His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro  
 180 185 190

cac acg cag aag tac tta tgg tgg aag cgc tat ctg acc tca ctg cag 624  
 His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln  
 195 200 205

ctg ctc cag ttt gtc ctg ttg acc act cac act ggc tac aac ctc ttc 672  
 Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe  
 210 215 220

act gag tgt gac ttc ccg gac tcc atg aac gct gtg gtg ttt gcc tac 720  
 Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr  
 225 230 235 240

tgt gtc agt ctc att gct ctc ttc agc aac ttc tac tat cag agc tac 768  
 Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr  
 245 250 255

ctc aac agg aag agc aag aag aca taa 795  
 Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys Thr  
 260

<210> 52  
 <211> 264  
 <212> PRT  
 <213> Oncorhynchus mykiss

<400> 52

Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu  
 1 5 10 15

Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro  
 20 25 30

Met Pro Val Ala Ile Ile Phe Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala  
 35 40 45

Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val  
 50 55 60

84

Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe  
65 70 75 80

His Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys  
85 90 95

Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys  
100 105 110

Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr  
115 120 125

Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His  
130 135 140

Val Tyr His His Gly Thr Met Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys  
145 150 155 160

Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe  
165 170 175

Val His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro  
180 185 190

His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln  
195 200 205

Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe  
210 215 220

Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr  
225 230 235 240

Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr  
245 250 255

Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys Thr  
260

<210> 53  
<211> 885  
<212> DNA  
<213> Oncorhynchus mykiss

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(885)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 53  
atg gag act ttt aat tat aaa cta aac atg tac ata gac tca tgg atg  
Met Glu Thr Phe Asn Tyr Lys Leu Asn Met Tyr Ile Asp Ser Trp Met  
1 5 10 15

## 85

ggt ccc aga gat gag cgg gta cag gga tgg ctg ctt ctg gac aac tac 96  
 Gly Pro Arg Asp Glu Arg Val Gln Gly Trp Leu Leu Leu Asp Asn Tyr  
 20 25 30

cct cca acc ttt gca cta aca gtc atg tac ctg ctg atc gta tgg atg 144  
 Pro Pro Thr Phe Ala Leu Thr Val Met Tyr Leu Leu Ile Val Trp Met  
 35 40 45

ggg ccc aag tac atg aga cac aga cag ccg gtg tct tgc cgg ggt ctc 192  
 Gly Pro Lys Tyr Met Arg His Arg Gln Pro Val Ser Cys Arg Gly Leu  
 50 55 60

ctc ttg gtc tac aat ctg ggc ctc acg atc ttg tcc ttc tat atg ttc 240  
 Leu Leu Val Tyr Asn Leu Gly Leu Thr Ile Leu Ser Phe Tyr Met Phe  
 65 70 75 80

tat gag atg gtg tct gct gtg tgg cac ggg gat tat aac ttc ttt tgc 288  
 Tyr Glu Met Val Ser Ala Val Trp His Gly Asp Tyr Asn Phe Phe Cys  
 85 90 95

caa gac aca cac agt gca gga gaa acc gat acc aag atc ata aat gtg 336  
 Gln Asp Thr His Ser Ala Gly Glu Thr Asp Thr Lys Ile Ile Asn Val  
 100 105 110

ctg tgg tgg tac tac ttc tcc aag ctc ata gag ttt atg gat acc ttc 384  
 Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser Lys Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe  
 115 120 125

ttc ttc atc ctg cgg aag aac aac cat caa atc acg ttt ctg cac atc 432  
 Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile  
 130 135 140

tac cac cat gct agc atg ctc aac atc tgg tgg ttc gtc atg aac tgg 480  
 Tyr His His Ala Ser Met Leu Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp  
 145 150 155 160

gtg ccc tgt ggt cac tcc tac ttt ggt gcc tcc ctg aac agc ttc atc 528  
 Val Pro Cys Gly His Ser Tyr Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile  
 165 170 175

cat gtc ctg atg tac tct tac tat ggg ctc tct gct gtc ccg gcc ttg 576  
 His Val Leu Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu  
 180 185 190

cgg ccc tat cta tgg tgg aag aaa tac atc aca caa gta cag ctg att 624  
 Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile  
 195 200 205

cag ttc ttt ttg acc atg tcc cag acg ata tgt gca gtc att tgg cca 672  
 Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro  
 210 215 220

tgt gat ttc ccc aga ggg tgg ctg tat ttc cag ata ttc tat gtc atc 720  
 Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile  
 225 230 235 240

aca ctt att gcc ctt ttc tca aac ttc tac att cag act tac aag aaa 768  
 Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys  
 245 250 255

cac ctt gtt tca caa aag aag gag tat cat cag aat ggc tct gtt gct 816  
 His Leu Val Ser Gln Lys Lys Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala  
 260 265 270

tca ttg aat ggc cat gtg aat ggg gtg aca ccc acg gaa acc att aca 864  
 Ser Leu Asn Gly His Val Asn Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr  
 275 280 285

cac agg aaa gtg agg ggg gac  
His Arg Lys Val Arg Gly Asp  
290 295

<210> 54  
<211> 295  
<212> PRT  
<213> Oncorhynchus mykiss

<400> 54

Met Glu Thr Phe Asn Tyr Lys Leu Asn Met Tyr Ile Asp Ser Trp Met  
1 5 10 15

Gly Pro Arg Asp Glu Arg Val Gln Gly Trp Leu Leu Leu Asp Asn Tyr  
20 25 30

Pro Pro Thr Phe Ala Leu Thr Val Met Tyr Leu Leu Ile Val Trp Met  
35 40 45

Gly Pro Lys Tyr Met Arg His Arg Gln Pro Val Ser Cys Arg Gly Leu  
50 55 60

Leu Leu Val Tyr Asn Leu Gly Leu Thr Ile Leu Ser Phe Tyr Met Phe  
65 70 75 80

Tyr Glu Met Val Ser Ala Val Trp His Gly Asp Tyr Asn Phe Phe Cys  
85 90 95

Gln Asp Thr His Ser Ala Gly Glu Thr Asp Thr Lys Ile Ile Asn Val  
100 105 110

Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser Lys Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe  
115 120 125

Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile  
130 135 140

Tyr His His Ala Ser Met Leu Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp  
145 150 155 160

Val Pro Cys Gly His Ser Tyr Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile  
165 170 175

His Val Leu Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu  
180 185 190

Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile  
195 200 205

Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro  
210 215 220

87

Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile  
 225 230 235 240

Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys  
 245 250 255

His Leu Val Ser Gln Lys Lys Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala  
 260 265 270

Ser Leu Asn Gly His Val Asn Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr  
 275 280 285

His Arg Lys Val Arg Gly Asp  
 290 295

<210> 55  
 <211> 6753  
 <212> DNA  
 <213> Oncorhynchus mykiss

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (513)..(1397)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 55  
 acggattaga agccgccgag cgggtgacag ccctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60  
 cctcgctctc accgggtcgcg ttcctgaaac gcagatgtgc ctccgcgccg actgctccga 120  
 acaataaaga ttctacaata ctacttttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180  
 ctggccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240  
 ttagtttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat 300  
 taacagatat ataaatgcaa aaactgcatt aaccacttta actaatactt tcaacatttt 360  
 cggtttgtat tacttcttat tcaaatgtaa taaaagtatc aacaaaaaat tgttaataata 420  
 cctctatact ttaacgtcaa ggagaaaaaa ccccggtatcg gactactagc agctgtaata 480  
 cgactcacta tagggaatat taagcttaca ta atg gag act ttt aat tat aaa 533  
 Met Glu Thr Phe Asn Tyr Lys  
 1 5  
 cta aac atg tac ata gac tca tgg atg ggt ccc aga gat gag cgg gta 581  
 Leu Asn Met Tyr Ile Asp Ser Trp Met Gly Pro Arg Asp Glu Arg Val  
 10 15 20  
 cag gga tgg ctg ctt ctg gac aac tac cct cca acc ttt gca cta aca 629  
 Gln Gly Trp Leu Leu Leu Asp Asn Tyr Pro Pro Thr Phe Ala Leu Thr  
 25 30 35  
 gtc atg tac ctg ctg atc gta tgg atg ggg ccc aag tac atg aga cac 677  
 Val Met Tyr Leu Leu Ile Val Trp Met Gly Pro Lys Tyr Met Arg His  
 40 45 50 55  
 aga cag ccg gtg tct tgc cgg ggt ctc ctc ttg gtc tac aat ctg ggc 725  
 Arg Gln Pro Val Ser Cys Arg Gly Leu Leu Val Tyr Asn Leu Gly  
 60 65 70

ctc acg atc ttg tcc ttc tat atg ttc tat gag atg gtg tct gct gtg 773  
 Leu Thr Ile Leu Ser Phe Tyr Met Phe Tyr Glu Met Val Ser Ala Val  
 75 80 85

tgg cac ggg gat tat aac ttc ttt tgc caa gac aca cac agt gca gga 821  
 Trp His Gly Asp Tyr Asn Phe Phe Cys Gln Asp Thr His Ser Ala Gly  
 90 95 100

gaa acc gat acc aag atc ata aat gtg ctg tgg tgg tac tac ttc tcc 869  
 Glu Thr Asp Thr Lys Ile Ile Asn Val Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser  
 105 110 115

aag ctc ata gag ttt atg gat acc ttc ttc ttc atc ctg cgg aag aac 917  
 Lys Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn  
 120 125 130 135

aac cat caa atc acg ttt ctg cac atc tac cac cat gct agc atg ctc 965  
 Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile Tyr His His Ala Ser Met Leu  
 140 145 150

aac atc tgg tgg ttc gtc atg aac tgg gtg ccc tgt ggt cac tcc tac 1013  
 Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp Val Pro Cys Gly His Ser Tyr  
 155 160 165

ttt ggt gcc tcc ctg aac agc ttc atc cat gtc ctg atg tac tct tac 1061  
 Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile His Val Leu Met Tyr Ser Tyr  
 170 175 180

tat ggg ctc tct gct gtc ccg gcc ttg cgg ccc tat cta tgg tgg aag 1109  
 Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys  
 185 190 195

aaa tac atc aca caa gta cag ctg att cag ttc ttt ttg acc atg tcc 1157  
 Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser  
 200 205 210 215

cag acg ata tgt gca gtc att tgg cca tgt gat ttc ccc aga ggg tgg 1205  
 Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp  
 220 225 230

ctg tat ttc cag ata ttc tat gtc atc aca ctt att gcc ctt ttc tca 1253  
 Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser  
 235 240 245

aac ttc tac att cag act tac aag aaa cac ctt gtt tca caa aag aag 1301  
 Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys His Leu Val Ser Gln Lys Lys  
 250 255 260

gag tat cat cag aat ggc tct gtt gct tca ttg aat ggc cat gtg aat 1349  
 Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala Ser Leu Asn Gly His Val Asn  
 265 270 275

ggg gtg aca ccc acg gaa acc att aca cac agg aaa gtg agg ggg gac 1397  
 Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr His Arg Lys Val Arg Gly Asp  
 280 285 290 295

tgaaggatcc actagtaacg gccgccagtg tgctggaatt ctgcagatat ccagcacagt 1457

ggcggccgct cgagtctaga gggcccttcg aaggtaagcc tatccctaac cctctcctcg 1517

gtctcgattc tacgcgtacc ggtcatcatc accatcacca ttgagtttaa acccgctgat 1577

cctagagggc cgcacatgt aattagttat gtcacgctta cattcacgcc ctccccccac 1637

atccgctcta accgaaaagg aaggagttag acaacctgaa gtctaggtcc ctatttat 1697

ttttatagtt atgttagtat taagaacgtt atttatat 1757

gtacagacgc gtgtacgcat gtaacattat actgaaaacc ttgcttgaga aggttttggg 1817  
acgctcgaag gctttaattt gcaagctgcg gccctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg 1877  
gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttcc tgcactga ctcgctgcg 1937  
tcggtcgttc ggctgcggcg agcggatca gctactcaa aggcggtaac acggttatcc 1997  
acagaatcag gggataacgc aggaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaagcccagg 2057  
aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat 2117  
cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaacccga caggactata aagataccag 2177  
gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcg tctcctgttc cgacctgccc gcttaccgga 2237  
tatctgtccg cctttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg 2297  
tatctcagtt cgggtgtaggt cgctcgtcc aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt 2357  
cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac 2417  
gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc 2477  
gggtctacag agttcttgaa gtgggtggcct aactacggct aactagaag gacagtattt 2537  
ggatatctgc ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gaggtaggtg ctcttgatcc 2597  
ggcaaaaaa ccaccgctgg tagcgggtgt ttttttgtt gcaagcagca gattacgcgc 2657  
agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtg 2717  
aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag 2777  
atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttg 2837  
tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcaacctatc cagcgatctg tctatttcgt 2897  
tcattccatag ttgcctgact ccccgctgtg tagataacta cgatacggga gcgcttacca 2957  
tctggcccca gtgctgcaat gataccgcga gaccacgct caccggtcc agatttatca 3017  
gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc 3077  
tccatccagt ctattaattg ttgcccggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt 3137  
ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg 3197  
gcttcattca gtcocggtc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgttggtc 3257  
aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg atcgttgta gaagtaagtt ggccgcagtg 3317  
ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga 3377  
tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcccga 3437  
ccgagttgct cttgcccggc gtcaacacgg gataataacc cgccacatag cagaacttta 3497  
aaagtgtca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg 3557  
ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcacccaact gatcttcagc atcttttact 3617  
ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaa ggaaggcaaa atgccgcaa aaagggaata 3677  
agggcgacac ggaaatgtg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt 3737  
tatcaggggt attgtctcat gagcggatag atatttgaat gtatttagaa aaataaaca 3797



ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt 3857  
atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct tcaagaaatt 3917  
cggtcgaaaa aagaaaagga gagggccaag agggagggca ttggtgacta ttgagcacgt 3977  
gagtatacgt gattaagcac acaaaggcag cttggagtat gtctgttatt aatttcacag 4037  
gtagttctgg tccattgggtg aaagtttgcg gcttgcagag cacagaggcc gcagaatgtg 4097  
ctctagattc cgatgctgac ttgctgggta ttatatgtgt gcccaataga aagagaacaa 4157  
ttgacccggg tattgcaagg aaaatttcaa gtcttgtaaa agcatataaa aatagttcag 4217  
gcactccgaa atacttggtt ggcgtgtttc gtaatcaacc taaggaggat gttttggctc 4277  
tggtcaatga ttacggcatt gatatcgccc aactgcacgg agatgagtcg tggcaagaat 4337  
accaagagtt cctcggtttg ccagttatta aaagactcgt atttccaaaa gactgcaaca 4397  
tactactcag tgcagcttca cagaaacctc attcgtttat tcccttggtt gattcagaag 4457  
caggtgggac aggtgaactt ttggattgga actcgatttc tgactgggtt ggaaggcaag 4517  
agagccccga gagcttacat tttatgttag ctgggtggact gacgccagaa aatgttggtg 4577  
atgcgcttag attaaatggc gttattgggtg ttgatgtaag cggaggtgtg gagacaaatg 4637  
gtgtaaaaga ctctaacaaa atagcaaatt tcgtcaaaaa tgctaagaaa taggttatta 4697  
ctgagtagta tttatttaag tattgtttgt gcacttgccc tagcttatcg atgataagct 4757  
gtcaaatgag agaattaatt ccacggacta tagactatac tagatactcc gtctactgta 4817  
cgatacactt ccgctcaggt ccttgctcct taacgaggcc ttaccactct tttgttactc 4877  
tattgatcca gctcagcaaa ggcagtggtg tctaagattc tatcttcgag atgtagtaaa 4937  
actagctaga ccgagaaaaga gactagaaat gcaaaaggca cttctacaat ggctgccatc 4997  
attattatcc gatgtgacgc tgcagcttct caatgatatt cgaatacgtt ttgaggagat 5057  
acagcctaatt atccgacaaa ctgttttaca gattttacgat cgtacttggt acccatcatt 5117  
gaattttgaa catccgaacc tgggagtttt ccctgaaaca gatagtatat ttgaacctgt 5177  
ataataatat atagtctagc gcttttacgga agacaatgta tgtatttcgg ttcttgagga 5237  
aactattgca tctattgcat aggtaatctt gcacgtcgca tccccgggtc attttctgag 5297  
tttccatctt gcacttcaat agcatatctt tgtaaacgaa gcatctgtgc ttcattttgt 5357  
agaacaaaaa tgcaacgcga gagcgctaatt tttcaaaca aagaatctga gctgcatttt 5417  
tacagaacag aatgcaacg cgaaagcgct atttttaccaa cgaagaatct gtgcttcatt 5477  
tttgtaaaac aaaaatgcaa cgcgacgaga gcgctaattt ttcaaacaaa gaatctgagc 5537  
tgcattttta cagaacagaa atgcaacgcg agagcgctat tttaccaaca aagaatctat 5597  
acttcttttt tgttctacaa aaatgcatcc cgagagcgct atttttctaa caaagcatct 5657  
tagattactt tttttctcct ttgtgcgctc tataatgcag tctcttgata actttttgca 5717  
ctgtaggtcc gttaagggtta gaagaaggct actttgggtg ctattttctc ttccataaaa 5777  
aaagcctgac tccacttccc gcgtttactg attactagcg aagctgcggg tgcatttttt 5837

caagataaag gcatcccccga ttatatattcta taccgatgtg gattgcgcat actttgtgaa 5897  
 cagaaagtga tagcgttgat gattcttcat tggtcagaaa attatgaacg gtttcttcta 5957  
 ttttgtctct atatactacg tataggaaat gtttacattt tcgtattgtt ttcgattcac 6017  
 tctatgaata gttcttacta caattttttt gtctaaagag taataactaga gataaacata 6077  
 aaaaatgtag aggtcgagtt tagatgcaag ttcaaggagc gaaagggtgga tgggtagggt 6137  
 atatagggat atagcacaga gatatatagc aaagagatac ttttgagcaa tgtttgtgga 6197  
 agcgggtattc gcaatgggaa gctccacccc ggttgataat cagaaaagcc caaaaaacag 6257  
 gaagattgta taagcaaata tttaaattgt aaacgttaat attttggttaa aattcgcggt 6317  
 aaatttttgt taaatcagct cattttttta cgaatagccc gaaatcggca aaatccctta 6377  
 taaatcaaaa gaatagaccg agatagggtt gagtgttggt ccagtttcca acaagagtcc 6437  
 actattaaag aacgtggact ccaacgtcaa agggcgaaaa agggctctatc agggcgatgg 6497  
 cccactacgt gaaccatcac cctaatacaag ttttttgggg tcgaggtgcc gtaaagcagt 6557  
 aaatcggaag ggtaaacgga tgccccatt tagagcttga cggggaaagc cggcgaacgt 6617  
 ggcgagaaaag gaagggaaga aagcgaaagg agcgggggct agggcggtgg gaagtgtagg 6677  
 ggtcacgctg ggcgtaacca ccacaccgc cgcgcttaat gggcgctac agggcgcgctg 6737  
 gggatgatcc actagt 6753

<210> 56  
 <211> 295  
 <212> PRT  
 <213> *Oncorhynchus mykiss*

<400> 56

Met Glu Thr Phe Asn Tyr Lys Leu Asn Met Tyr Ile Asp Ser Trp Met  
1 5 10 15

Gly Pro Arg Asp Glu Arg Val Gln Gly Trp Leu Leu Leu Asp Asn Tyr  
20 25 30

Pro Pro Thr Phe Ala Leu Thr Val Met Tyr Leu Leu Ile Val Trp Met  
35 40 45

Gly Pro Lys Tyr Met Arg His Arg Gln Pro Val Ser Cys Arg Gly Leu  
50 55 60

Leu Leu Val Tyr Asn Leu Gly Leu Thr Ile Leu Ser Phe Tyr Met Phe  
65 70 75 80

Tyr Glu Met Val Ser Ala Val Trp His Gly Asp Tyr Asn Phe Phe Cys  
85 90 95

Gln Asp Thr His Ser Ala Gly Glu Thr Asp Thr Lys Ile Ile Asn Val  
100 105 110

Leu Trp Trp Tyr Tyr Phe Ser Lys Leu Ile Glu Phe Met Asp Thr Phe  
 115 120 125  
 Phe Phe Ile Leu Arg Lys Asn Asn His Gln Ile Thr Phe Leu His Ile  
 130 135 140  
 Tyr His His Ala Ser Met Leu Asn Ile Trp Trp Phe Val Met Asn Trp  
 145 150 155 160  
 Val Pro Cys Gly His Ser Tyr Phe Gly Ala Ser Leu Asn Ser Phe Ile  
 165 170 175  
 His Val Leu Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Val Pro Ala Leu  
 180 185 190  
 Arg Pro Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Gln Val Gln Leu Ile  
 195 200 205  
 Gln Phe Phe Leu Thr Met Ser Gln Thr Ile Cys Ala Val Ile Trp Pro  
 210 215 220  
 Cys Asp Phe Pro Arg Gly Trp Leu Tyr Phe Gln Ile Phe Tyr Val Ile  
 225 230 235 240  
 Thr Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Ile Gln Thr Tyr Lys Lys  
 245 250 255  
 His Leu Val Ser Gln Lys Lys Glu Tyr His Gln Asn Gly Ser Val Ala  
 260 265 270  
 Ser Leu Asn Gly His Val Asn Gly Val Thr Pro Thr Glu Thr Ile Thr  
 275 280 285  
 His Arg Lys Val Arg Gly Asp  
 290 295

<210> 57  
 <211> 6645  
 <212> DNA  
 <213> Oncorhynchus mykiss

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (513)..(1304)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 57  
 acggattaga agccgccgag cgggtgacag cctccgaag gaagactctc ctccgtgcgt 60  
 cctcgtcctc accggtcgcg ttcctgaaac gcagatgtgc ctgcgcgcgc actgctccga 120  
 acaataaaga ttctacaata ctgactttta tggttatgaa gaggaaaaat tggcagtaac 180  
 ctggcccccac aaaccttcaa atgaacgaat caaattaaca accataggat gataatgcga 240

ttagttttttt agccttattt ctggggtaat taatcagcga agcgatgatt tttgatctat	300
taacagatat ataaatgcaa aaactgcatt aaccacttta actaatactt tcaacatttt	360
cggtttgtat tactttcttat tcaaagttaa taaaagtatc aacaaaaaat tgtaatatata	420
cctctatact ttaacgtcaa ggagaaaaaa ccccggatcg gactactagc agctgtaata	480
cgactcacta tagggaatat taagcttaca ta atg gct tca aca tgg caa agc Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser 1 5	533
ggt cag tcc atg cgc cag tgg att tta gag aat gga gat aaa agg aca Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr 10 15 20	581
gac cca tgg cta ctg gtc tac tcc cct atg cca gtg gcc att ata ttc Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro Met Pro Val Ala Ile Ile Phe 25 30 35	629
ctc ctc tat ctt ggt gtg gtc tgg gct ggg ccc aag ctg atg aaa cgc Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg 40 45 50 55	677
agg gaa cca gtt gat ctc aag gct gta ctc att gtc tac aac ttc gcc Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala 60 65 70	725
atg gtc tgc ctg tct gtc tac atg ttc cat gag ttc ttg gtc acg tcc Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe His Glu Phe Leu Val Thr Ser 75 80 85	773
ttg ctg tct aac tac agt tac ctg tgt caa cct gtg gat tac agc act Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr 90 95 100	821
agt cca ctg gcg atg agg atg gcc aaa gta tgc tgg tgg ttt ttc ttc Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe 105 110 115	869
tcc aag gtc ata gaa ttg gct gac acg gtg ttc ttc atc ctg agg aag Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys 120 125 130 135	917
aag aac agt cag ctg act ttc ctg cat gtc tat cac cat ggc acc atg Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His Val Tyr His His Gly Thr Met 140 145 150	965
atc ttc aac tgg tgg gca ggg gtc aag tat ctg gct gga ggc caa tgc Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser 155 160 165	1013
ttc ttc atc ggc ctg ctc aat acc ttt gtg cac atc gtg atg tac tct Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe Val His Ile Val Met Tyr Ser 170 175 180	1061
tac tac gga ctg gct gcc ctg ggg cct cac acg cag aag tac tta tgg Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp 185 190 195	1109
tgg aag cgc tat ctg acc tca ctg cag ctg ctc cag ttt gtc ctg ttg Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu 200 205 210 215	1157
acc act cac act ggc tac aac ctc ttc act gag tgt gac ttc ccg gac Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp 220 225 230	1205

tcc atg aac gct gtg gtg ttt gcc tac tgt gtc agt ctc att gct ctc 1253  
 Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu  
 235 240 245

ttc agc aac ttc tac tat cag agc tac ctc aac agg aag agc aag aag 1301  
 Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys  
 250 255 260

aca taaggatcca ctagtaacgg ccgccagtgt gctggaattc tgcagatata 1354  
 Thr

catcacactg gggccgctc gagcatgcat ctagagggcc gcatcatgta attagttatg 1414  
 tcacgcttac attcacgccc tccccccaca tccgctctaa ccgaaaagga aggaggttaga 1474  
 caaactgaag tctaggtccc tatttatttt tttatagtta tgtaggtatt aagaacggtta 1534  
 tttatatttc aaatttttct tttttttctg tacagacgcg tgtacgcatg taacattata 1594  
 ctgaaaacct tgcttgagaa ggttttgga cgctcgaagg ctttaatttg cggccctgca 1654  
 ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt attggcgct cttccgcttc 1714  
 ctgctcact gactcgtgc gctcggctgt tcggctgcgg cgagcgggtat cagctcactc 1774  
 aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc 1834  
 aaaaggccag caaaagcca ggaaccgtaa aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag 1894  
 gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaacct 1954  
 gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt 2014  
 tccgacctg ccgcttaccg gatacctgtc cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct 2074  
 ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag ttccggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg 2134  
 ctgtgtgcac gaaccccccg ttcagcccg cgcgtgcgcc ttatccggtta actatcgtct 2194  
 tgagtccaac ccggttaagac acgacttatc gccactggca gcagccactg gtaacaggat 2254  
 tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac agagtctctg aagtgggtggc ctaactacgg 2314  
 ctacactaga aggacagtat ttggtatctg cgtctgtctg aagccagtta ccttcggaaa 2374  
 aagagttggt agctcttgat ccggcaaaca aaccaccgct ggtagcgggt gtttttttgt 2434  
 ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc 2494  
 tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa gggatttttg tcatgagatt 2554  
 atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta 2614  
 aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat 2674  
 ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg tgtagataac 2734  
 tacgatacgg gagcgcttac catctggccc cagtgcgtga atgataccgc gagaccacg 2794  
 ctcaccggct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag 2854  
 tggtcctgca actttatccg cctccattca gtctattaat tggtgccggg aagctagagt 2914  
 aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cggtgttggc attgctacag gcatcgtggt 2974  
 gtcactctcg tcgtttggta tggcttcatt cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt 3034

tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc ttcggtcctc cgatcgttgt 3094  
cagaagtaag ttggccgcag tgttatcact catggttatg gcagcactgc ataattctct 3154  
tactgtcatg ccatacgtaa gatgcttttc tgtgactggg gactactcaa ccaagtcatt 3214  
ctgagaatag tgtatgctgc gaccgagttg ctcttgcccg gcgtcaatac gggataatag 3274  
tgtatcacat agcagaactt taaaagtgt catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa 3334  
actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg taaccactc gtgcacccaa 3394  
ctgatcttca gcattcttta ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca 3454  
aaatgccgca aaaaaggga taaggcgac acggaaatgt tgaatactca tactcttctt 3514  
ttttcaatgg gtaataactg atataattaa attgaagctc taatttgtga gtttagtata 3574  
catgcattta cttataatac agttttttag ttttctggc cgcattctct caaatatgct 3634  
tcccagcctg cttttctgta acgttcaccc tctaccttag catcccttcc ctttgcaaat 3694  
agtcctcttc caacaataat atgtcagat cctgtagaga ccacatcatc cagggttcta 3754  
tactgttgac ccaatgcgtc tcccttgta tctaaacca caccgggtgt cataatcaac 3814  
caatcgtaac cttcatctct tccacccatg tctcttgag caataaagcc gataacaaaa 3874  
tctttgtcgc tcttcgcaat gtcaacagta cccttagtat attctccagt agatagggag 3934  
cccttgcatg acaattctgc taacatcaaa aggcctctag gttcctttgt tacttcttct 3994  
gccgcctgct tcaaaccgct aacaatacct gggccacca caccgtgtgc attcgtaatg 4054  
tctgcccatt ctgctattct gtatacccc gcagagtact gcaatttgac tgtattacca 4114  
atgtcagcaa attttctgtc ttcgaagagt aaaaaattgt acttggcgga taatgccttt 4174  
agcgggttaa ctgtgccctc catggaaaaa tcagtcaaga tatccacatg tgtttttagt 4234  
aaacaaattt tgggacctaa tgcttcaact aactccagta attccttggg ggtacgaaca 4294  
tccaatgaag cacacaagtt tgtttgcttt tctgtcatga tattaaatag cttggcagca 4354  
acaggactag gatgagtgc agcacgttcc ttatatgtag ctttcgacat gatttatctt 4414  
cgtttcctgc aggtttttgt tctgtgcagt tgggttaaga atactgggca atttcatgtt 4474  
tcttcaacac tacatatgcy tatatatacc aatctaagtc tgtgctcctt cttcgttctt 4534  
tccttctgtt cggagattac cgaatcaaaa aaatttcaa gaaaccgaaa tcaaaaaaaa 4594  
gaataaaaaa aaaatgatga attgaattga aaagctagct tatcgatgat aagctgtcaa 4654  
agatgagaat taattccacg gactatagac tatactagat actccgtcta ctgtacgata 4714  
cacttccgct caggctcctg tcccttaacg aggccttacc actcttttgt tactctattg 4774  
atccagctca gcaaaggcag tgtgatctaa gattctatct tcgcgatgta gtaaaactag 4834  
ctagaccgag aaagagacta gaaatgcaa aggcacttct acaatggctg ccatcattat 4894  
tatccgatgt gacgctgcag cttctcaatg atattcgaat acgctttgag gagatacagc 4954  
ctaatatccg acaaactgtt ttacagattt acgatcgta ttgttaccca tcattgaatt 5014  
ttgaacatcc gaacctggga gttttccctg aaacagatag tatatttgaa cctgtataat 5074

aatatatagt ctagcgcttt acggaagaca atgtatgtat ttcgggttcct ggagaaacta 5134  
ttgcatctat tgcataaggta atcttgcacg tcgcatcccc gggttcatttt ctgcgtttcc 5194  
atcttgcact tcaatagcat atcttgttta acgaagcatc tgtgcttcat tttgtagaac 5254  
aaaaatgcaa cgcgagagcg ctaatttttc aaacaaagaa tctgagctgc atttttacag 5314  
aacagaaatg caacgcgaaa ggcgtatttt accaacgaag aatctgtgct tcatttttgt 5374  
aaaacaaaaa tgcaacgcga cgagagcgct aattttttcaa acaaagaatc tgagctgcat 5434  
ttttacagaa cagaaatgca acgcgagagc gctatttttac caacaaagaa tctatacttc 5494  
ttttttgttc tacaaaaatg catccccgaga gcgctatttt tctaacaaag catcttagat 5554  
tacttttttt ctcttttgtg cgctctataa tgcagtctct tgataacttt ttgcaactgta 5614  
ggtccgttaa ggtagaaga aggctacttt ggtgtctatt ttctcttcca taaaaaagc 5674  
ctgactccac ttcccgctt tactgattac tagcgaagct gcgggtgcat tttttcaaga 5734  
taaaggcatc cccgattata ttctataccg atgtggattg cgcatacttt gtgaacagaa 5794  
agtgatagcg ttgatgattc ttcatgggc agaaaattat gaacggtttc ttctattttg 5854  
tctctatata ctacgtatag gaaatgttta cattttcgta ttgttttcga ttcactctat 5914  
gaatagtctt tactacaatt tttttgtcta aagagtaata ctagagataa acataaaaaa 5974  
tgtagaggtc gagtttagat gcaagttcaa ggagcgaaag gtggatgggt aggttatata 6034  
gggatatagc acagagatat atagcaaaga gatacttttg agcaatgttt gtggaagcgg 6094  
tattcgcaat gggaagctcc accccggttg ataatcagaa aagccccaaa aacaggaaga 6154  
ttgtataagc aaatatttaa attgtaaacy ttaatatatt gttaaaattc gcgttaaatt 6214  
tttgtaaat cagctcattt tttaacgaat agcccgaat cggcaaaatc ccttataaat 6274  
caaaagaata gaccgagata ggggttgagt ttgttccagt ttccaacaag agtccactat 6334  
taaagaacgt ggactccaac gtcaaagggc gaaaaagggc ctatcagggc gatggcccac 6394  
tacgtgaacc atcacctaa tcaagttttt tggggtcgag gtgccgtaaa gcagtaaadc 6454  
ggaagggtaa acggatgcc ccatttagag cttgacggg aaagccggcg aacgtggcga 6514  
gaaaggaagg gaagaaagcg aaaggagcgg gggctagggc ggtgggaagt gtaggggtca 6574  
cgctgggcgt aaccaccaca cccgccgcgc ttaatggggc gctacagggc gcgtggggat 6634  
gatccactag t 6645

<210> 58  
<211> 264  
<212> PRT  
<213> *Oncorhynchus mykiss*

<400> 58

Met Ala Ser Thr Trp Gln Ser Val Gln Ser Met Arg Gln Trp Ile Leu  
1 5 10 15

Glu Asn Gly Asp Lys Arg Thr Asp Pro Trp Leu Leu Val Tyr Ser Pro  
20 25 30

Met Pro Val Ala Ile Ile Phe Leu Leu Tyr Leu Gly Val Val Trp Ala  
35 40 45

Gly Pro Lys Leu Met Lys Arg Arg Glu Pro Val Asp Leu Lys Ala Val  
50 55 60

Leu Ile Val Tyr Asn Phe Ala Met Val Cys Leu Ser Val Tyr Met Phe  
65 70 75 80

His Glu Phe Leu Val Thr Ser Leu Leu Ser Asn Tyr Ser Tyr Leu Cys  
85 90 95

Gln Pro Val Asp Tyr Ser Thr Ser Pro Leu Ala Met Arg Met Ala Lys  
100 105 110

Val Cys Trp Trp Phe Phe Phe Ser Lys Val Ile Glu Leu Ala Asp Thr  
115 120 125

Val Phe Phe Ile Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Leu Thr Phe Leu His  
130 135 140

Val Tyr His His Gly Thr Met Ile Phe Asn Trp Trp Ala Gly Val Lys  
145 150 155 160

Tyr Leu Ala Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ile Gly Leu Leu Asn Thr Phe  
165 170 175

Val His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ala Ala Leu Gly Pro  
180 185 190

His Thr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Arg Tyr Leu Thr Ser Leu Gln  
195 200 205

Leu Leu Gln Phe Val Leu Leu Thr Thr His Thr Gly Tyr Asn Leu Phe  
210 215 220

Thr Glu Cys Asp Phe Pro Asp Ser Met Asn Ala Val Val Phe Ala Tyr  
225 230 235 240

Cys Val Ser Leu Ile Ala Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Tyr Gln Ser Tyr  
245 250 255

Leu Asn Arg Lys Ser Lys Lys Thr  
260

<210> 59  
<211> 1077  
<212> DNA  
<213> Thalassiosira pseudonana  
<220>



<221> CDS  
 <222> (1)..(1077)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 59  
 atg tgc tca tca ccg ccg tca caa tcc aaa aca aca tcc ctc cta gca 48  
 Met Cys Ser Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala  
 1 5 10 15  
 cgg tac acc acc gcc gcc ctc ctc ctc ctc acc ctc aca aca tgg tgc 96  
 Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys  
 20 25 30  
 cac ttc gcc ttc cca gcc gcc acc gcc aca ccc ggc ctc acc gcc gaa 144  
 His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu  
 35 40 45  
 atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg 192  
 Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu  
 50 55 60  
 agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag 240  
 Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys  
 65 70 75 80  
 tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg 288  
 Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val  
 85 90 95  
 gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg 336  
 Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala  
 100 105 110  
 gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg 384  
 Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly  
 115 120 125  
 gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt 432  
 Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys  
 130 135 140  
 gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg 480  
 Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly  
 145 150 155 160  
 aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata 528  
 Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile  
 165 170 175  
 gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att 576  
 Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile  
 180 185 190  
 tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc 624  
 Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser  
 195 200 205  
 tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac 672  
 Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr  
 210 215 220  
 ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg 720  
 Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr  
 225 230 235 240  
 ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat 768  
 Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp

245	250	255	
gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln 260 265 270			816
gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys 275 280 285			864
cga tcc tat tgc aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys 290 295 300			912
aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp 305 310 315 320			960
ata tgc gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala 325 330 335			1008
gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr 340 345 350			1056
cgt gtt act ggt gcc atg tag Arg Val Thr Gly Ala Met 355			1077

<210> 60  
 <211> 358  
 <212> PRT  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<400> 60

Met Cys Ser Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala  
 1 5 10 15

Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys  
 20 25 30

His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu  
 35 40 45

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu  
 50 55 60

Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys  
 65 70 75 80

Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val  
 85 90 95

Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala  
 100 105 110

Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly  
 115 120 125

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys  
 130 135 140

Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly  
 145 150 155 160

Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile  
 165 170 175

Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile  
 180 185 190

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser  
 195 200 205

Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr  
 210 215 220

Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr  
 225 230 235 240

Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp  
 245 250 255

Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln  
 260 265 270

Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys  
 275 280 285

Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys  
 290 295 300

Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp  
 305 310 315 320

Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala  
 325 330 335

Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr  
 340 345 350

Arg Val Thr Gly Ala Met  
 355

<210> 61  
 <211> 933  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*  
 <220>

<221> CDS  
 <222> (1)..(933)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 61  
 atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg 48  
 Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu  
 1 5 10 15  
 agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag 96  
 Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys  
 20 25 30  
 tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg 144  
 Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val  
 35 40 45  
 gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg 192  
 Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala  
 50 55 60  
 gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg 240  
 Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly  
 65 70 75 80  
 gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt 288  
 Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys  
 85 90 95  
 gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg 336  
 Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly  
 100 105 110  
 aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata 384  
 Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile  
 115 120 125  
 gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att 432  
 Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile  
 130 135 140  
 tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc 480  
 Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser  
 145 150 155 160  
 tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac 528  
 Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr  
 165 170 175  
 ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg 576  
 Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr  
 180 185 190  
 ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat 624  
 Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp  
 195 200 205  
 gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag 672  
 Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln  
 210 215 220  
 gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa 720  
 Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys  
 225 230 235 240  
 cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag 768  
 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys

## 102

245										250										255										
aat gat gat ggg aat aat gag gat	caa tgt cac aag gct atg aag gat	816																												
Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp	Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp																													
260	265	270																												
ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct	864																													
Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala																														
275	280	285																												
gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act	912																													
Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr																														
290	295	300																												
cgt gtt act ggt gcc atg tag	933																													
Arg Val Thr Gly Ala Met																														
305	310																													
 <210> 62																														
<211> 310																														
<212> PRT																														
<213> <i>Thalassiosira pseudonana</i>																														
 <400> 62																														
Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu																														
1	5	10	15																											
Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys																														
20	25	30																												
Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val																														
35	40	45																												
Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala																														
50	55	60																												
Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly																														
65	70	75	80																											
Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys																														
85	90	95																												
Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly																														
100	105	110																												
Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile																														
115	120	125																												
Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile																														
130	135	140																												
Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser																														
145	150	155	160																											
Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr																														
165	170	175																												

Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Tyr Thr  
 180 185 190  
 Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp  
 195 200 205  
 Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln  
 210 215 220  
 Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys  
 225 230 235 240  
 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys  
 245 250 255  
 Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp  
 260 265 270  
 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala  
 275 280 285  
 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr  
 290 295 300  
 Arg Val Thr Gly Ala Met  
 305 310

<210> 63  
 <211> 933  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(933)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 63 48  
 atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg  
 Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu  
 1 5 10 15  
 agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag 96  
 Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys  
 20 25 30  
 tat gat atg aag tca ctc cta acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg 144  
 Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val  
 35 40 45  
 gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg 192  
 Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala  
 50 55 60  
 gtg atg aat aga gac cat ccg ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg 240  
 Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly

104

65	70	75	80	
gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys 85 90 95				288
gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly 100 105 110				336
aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile 115 120 125				384
gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggt gga gac att Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile 130 135 140				432
tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser 145 150 155 160				480
tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr 165 170 175				528
ctg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr 180 185 190				576
ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp 195 200 205				624
gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln 210 215 220				672
gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys 225 230 235 240				720
cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys 245 250 255				768
aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp 260 265 270				816
ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala 275 280 285				864
gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr 290 295 300				912
cgt gtt act ggt gcc atg tag Arg Val Thr Gly Ala Met 305 310				933

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 310

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Thalassiosira pseudonana

&lt;400&gt; 64

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu  
 1 5 10 15

Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys  
 20 25 30

Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val  
 35 40 45

Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala  
 50 55 60

Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly  
 65 70 75 80

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys  
 85 90 95

Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly  
 100 105 110

Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile  
 115 120 125

Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile  
 130 135 140

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser  
 145 150 155 160

Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr  
 165 170 175

Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Tyr Thr  
 180 185 190

Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp  
 195 200 205

Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln  
 210 215 220

Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys  
 225 230 235 240

Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys  
 245 250 255

Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp  
 260 265 270



Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala  
 275 280 285

Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr  
 290 295 300

Arg Val Thr Gly Ala Met  
 305 310

<210> 65  
 <211> 825  
 <212> DNA  
 <213> Thraustochytrium aureum

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(825)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 65  
 atg acg agc aac atg agc gcg tgg ggc gtc gcc gtc gac cag acg cag 48  
 Met Thr Ser Asn Met Ser Ala Trp Gly Val Ala Val Asp Gln Thr Gln  
 1 5 10 15  
 cag gtc gtc gac cag atc atg ggc ggc gcc gag ccg tac aag ctg aca 96  
 Gln Val Val Asp Gln Ile Met Gly Gly Ala Glu Pro Tyr Lys Leu Thr  
 20 25 30  
 gaa ggg cgc atg acg aac gtc gag acg atg ctg gcg atc gag tgc ggc 144  
 Glu Gly Arg Met Thr Asn Val Glu Thr Met Leu Ala Ile Glu Cys Gly  
 35 40 45  
 tac gcc gcc atg ctg ctg ttc ctg acc ccg atc atg aag cag gcc gag 192  
 Tyr Ala Ala Met Leu Leu Phe Leu Thr Pro Ile Met Lys Gln Ala Glu  
 50 55 60  
 aag ccc ttc gag ctc aag tcc ttc aag ctc gcc cac aac ctg ttc ctg 240  
 Lys Pro Phe Glu Leu Lys Ser Phe Lys Leu Ala His Asn Leu Phe Leu  
 65 70 75 80  
 ttc gtc ctg tcc gcc tac atg tgc ctc gag acc gtc cgc cag gcc tac 288  
 Phe Val Leu Ser Ala Tyr Met Cys Leu Glu Thr Val Arg Gln Ala Tyr  
 85 90 95  
 ctt gcg ggc tac tcg gtg ttc ggc aac gac atg gag aag ggc agc gag 336  
 Leu Ala Gly Tyr Ser Val Phe Gly Asn Asp Met Glu Lys Gly Ser Glu  
 100 105 110  
 ccg cac gcg cac ggc atg gcc caa atc gtg tgg atc ttt tac gtg tcc 384  
 Pro His Ala His Gly Met Ala Gln Ile Val Trp Ile Phe Tyr Val Ser  
 115 120 125  
 aag gcg tac gag ttc gtg gac acg ctg atc atg atc ctg tgc aaa aag 432  
 Lys Ala Tyr Glu Phe Val Asp Thr Leu Ile Met Ile Leu Cys Lys Lys  
 130 135 140  
 ttc aac cag gtc tcc gtc ctg cac gtg tac cac cac gcc acc atc ttt 480  
 Phe Asn Gln Val Ser Val Leu His Val Tyr His His Ala Thr Ile Phe  
 145 150 155 160  
 gct atc tgg ttt atg atc gcc aag tac gcc ccg ggc ggc gac gca tac 528  
 Ala Ile Trp Phe Met Ile Ala Lys Tyr Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr

[illegible]

<400> 66

Pro His Ala His Gly Met Ala Gln Ile Val Trp Ile Phe Tyr Val Ser  
115 120 125

Lys Ala Tyr Glu Phe Val Asp Thr Leu Ile Met Ile Leu Cys Lys Lys  
130 135 140

Phe Asn Gln Val Ser Val Leu His Val Tyr His His Ala Thr Ile Phe  
145 150 155 160

Ala Ile Trp Phe Met Ile Ala Lys Tyr Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr  
165 170 175

Phe Ser Val Ile Leu Asn Ser Phe Val His Thr Val Met Tyr Ala Tyr  
180 185 190

Tyr Phe Phe Ser Ser Gln Gly Phe Gly Phe Val Lys Pro Ile Lys Pro  
195 200 205

Tyr Ile Thr Ser Leu Gln Met Thr Gln Phe Met Ala Met Leu Val Gln  
210 215 220

Ser Leu Tyr Asp Tyr Leu Tyr Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Gly Leu Val  
225 230 235 240

Lys Leu Leu Gly Val Tyr Met Leu Thr Leu Leu Ala Leu Phe Gly Asn  
245 250 255

Phe Phe Val Gln Ser Tyr Leu Lys Lys Ser Asn Lys Pro Lys Ala Lys  
260 265 270

Ser Ala

<210> 67  
<211> 903  
<212> DNA  
<213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(903)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 67  
atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg ttc gcc gcg tac 48  
Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr  
1 5 10 15  
gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tcg cac gcg aat ggc 96  
Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly  
20 25 30  
atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tcg ttg agg 144  
Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg  
35 40 45  
ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga 192  
Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly

50	55	60	
ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg			240
Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met			80
65	70	75	
ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg			288
Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly			95
	85	90	
atg ttc gcg cga gag atc tcg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca			336
Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser			110
	100	105	
acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg			384
Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val			125
	115	120	
tgg ttg cac tac aac aac caa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc			432
Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe			140
	130	135	
atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat			480
Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr			160
	145	150	
cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg			528
His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met			175
	165	170	
gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg			576
Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser			190
	180	185	
ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc			624
Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly			205
	195	200	
att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa			672
Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln			220
	210	215	
ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac			720
Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His			240
	225	230	
tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg			768
Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met			255
	245	250	
ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg			816
Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser			270
	260	265	
cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg			864
Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala			285
	275	280	
ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa			903
Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp			300
	290	295	

<210> 68  
 <211> 300  
 <212> PRT  
 <213> Ostreococcus tauri

&lt;400&gt; 68

Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr  
1 5 10 15

Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly  
20 25 30

Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg  
35 40 45

Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly  
50 55 60

Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met  
65 70 75 80

Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly  
85 90 95

Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser  
100 105 110

Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val  
115 120 125

Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe  
130 135 140

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr  
145 150 155 160

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met  
165 170 175

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser  
180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly  
195 200 205

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln  
210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His  
225 230 235 240

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met  
245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser  
260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala  
 275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp  
 290 295 300

<210> 69  
 <211> 879  
 <212> DNA  
 <213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(879)  
 <223> Delta-6-Elongase

<400> 69 48  
 atg agt ggc tta cgt gca ccc aac ttt tta cac aga ttc tgg aca aag  
 Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys  
 1 5 10 15  
 tgg gac tac gcg att tcc aaa gtc gtc ttc acg tgt gcc gac agt ttt 96  
 Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe  
 20 25 30  
 cag tgg gac atc ggg cca gtg agt tgc agt acg gcg cat tta ccc gcc 144  
 Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala  
 35 40 45  
 att gaa tcc cct acc cca ctg gtg act agc ctc ttg ttc tac tta gtc 192  
 Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val  
 50 55 60  
 aca gtt ttc ttg tgg tat ggt cgt tta acc agg agt tca gac aag aaa 240  
 Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys  
 65 70 75 80  
 att aga gag cct acg tgg tta aga aga ttc ata ata tgt cat aat gcg 288  
 Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala  
 85 90 95  
 ttc ttg ata gtc ctc agt ctt tac atg tgc ctt ggt tgt gtg gcc caa 336  
 Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln  
 100 105 110  
 gcg tat cag aat gga tat act tta tgg ggt aat gaa ttc aag gcc acg 384  
 Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr  
 115 120 125  
 gaa act cag ctt gct ctc tac att tac att ttt tac gta agt aaa ata 432  
 Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile  
 130 135 140  
 tac gag ttt gta gat act tac att atg ctt ctc aag aat aac ttg cgg 480  
 Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg  
 145 150 155 160  
 caa gta agt ttc cta cac att tat cac cac agc acg att tcc ttt att 528  
 Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile  
 165 170 175  
 tgg tgg atc att gct cgg agg gct ccg ggt ggt gat gct tac ttc agc 576  
 Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser

180	185	190	
gcg gcc ttg aac tca tgg gta cac gtg tgc atg tac acc tat tat cta Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu 195 200 205			624
tta tca acc ctt att gga aaa gaa gat cct aag cgt tcc aac tac ctt Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu 210 215 220			672
tgg tgg ggt cgc cac cta acg caa atg cag atg ctt cag ttt ttc ttc Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe 225 230 235 240			720
aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tcg ttc tct acg tat ccc aag Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys 245 250 255			768
ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc ggc ttg Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu 260 265 270			816
ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln 275 280 285			864
aaa aaa cag cag tga Lys Lys Gln Gln 290			879
<210> 70			
<211> 292			
<212> PRT			
<213> <i>Ostreococcus tauri</i>			
<400> 70			
Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys 1 5 10 15			
Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe 20 25 30			
Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala 35 40 45			
Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val 50 55 60			
Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys 65 70 75 80			
Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala 85 90 95			
Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln 100 105 110			
Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr 115 120 125			

Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile  
130 135 140

Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg  
145 150 155 160

Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile  
165 170 175

Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser  
180 185 190

Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu  
195 200 205

Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu  
210 215 220

Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe  
225 230 235 240

Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys  
245 250 255

Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu  
260 265 270

Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln  
275 280 285

Lys Lys Gln Gln  
290

<210> 71  
<211> 1362  
<212> DNA  
<213> *Primula farinosa*  
  
<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1362)  
<223> Delta-6-Desaturase

<400> 71  
atg gct aac aaa tct cca cca aac ccc aaa aca ggt tac ata acc agc  
Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser  
1 5 10 15

tca gac ctg aaa tcc cac aac aag gca ggt gac cta tgg ata tca atc  
Ser Asp Leu Lys Ser His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile  
20 25 30

cac ggc caa gtc tac gac gtg tcc tct tgg gcc gcc ctt cat ccg ggg  
His Gly Gln Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Ala Leu His Pro Gly  
144

48

96

144



35	40	45	
ggc act gcc cct ctc atg gcc ctt gca gga cac gac gtg acc gat gct Gly Thr Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala 50 55 60			192
ttc ctc gcg tac cat ccc cct tcc act gcc cgt ctc ctc cct cct ctc Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu 65 70 75 80			240
tct acc aac ctc ctt ctt caa aac cac tcc gtc tcc ccc acc tcc tca Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser 85 90 95			288
gac tac cgc aaa ctc ctc gac aac ttc cat aaa cat ggc ctt ttc cgc Asp Tyr Arg Lys Leu Leu Asp Asn Phe His Lys His Gly Leu Phe Arg 100 105 110			336
gcc agg ggc cac act gct tac gcc acc ttc gtc ttc atg ata gcg atg Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Phe Met Ile Ala Met 115 120 125			384
ttt cta atg agc gtg act gga gtc ctt tgc agc gac agt gcg tgg gtc Phe Leu Met Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val 130 135 140			432
cat ttg gct agc ggc gga gca atg ggg ttc gcc tgg atc caa tgc gga His Leu Ala Ser Gly Gln Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly 145 150 155 160			480
tgg ata ggt cac gac tct ggg cat tac cgg att atg tct gac agg aaa Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys 165 170 175			528
tgg aac tgg ttc gcg caa atc cta agc aca aac tgc ctg cag ggg att Trp Asn Trp Phe Ala Gln Ile Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile 180 185 190			576
agt atc ggg tgg tgg aag tgg aac cat aat gcg cac cac atc gct tgc Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys 195 200 205			624
aat agc ctg gat tac gac ccc gac ctc cag tat atc cct ttg ctc gtc Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val 210 215 220			672
gtc tcc ccc aag ttc ttc aac tcc ctt act tct cgt ttc tac gac aag Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys 225 230 235 240			720
aag ctg aac ttc gac ggc gtg tgc agg ttt ctg gtt tgc tac cag cac Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His 245 250 255			768
tgg acg ttt tat ccg gtc atg tgt gtc gct agg ctg aac atg ctc gcg Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Leu Ala 260 265 270			816
cag tca ttt ata acg ctt ttc tgc agt agg gag gtg tgc cat agg gcg Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Cys His Arg Ala 275 280 285			864
caa gag gtt ttc gga ctt gcc gtg ttt tgg gtt tgg ttt ccg ctt tta Gln Glu Val Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu 290 295 300			912
ctt tct tgt tta cct aat tgg ggc gag agg att atg ttt ttg ctt gcg Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala			960

## 115

305	310	315	320	
agc tat tcc gtt acg ggg ata caa cac gtg cag ttc agc ttg aac cat				1008
Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His				
325		330	335	
ttt tct tcc gac gtc tat gtg ggc ccg cca gta ggt aat gac tgg ttc				1056
Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Gly Asn Asp Trp Phe				
340		345	350	
aag aaa cag act gcc ggg aca ctt aac ata tcc tgc ccg gcg tgg atg				1104
Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met				
355		360	365	
gat tgg ttc cat ggc ggg tta cag ttt cag gtc gag cac cac ttg ttt				1152
Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe				
370		375	380	
ccg cgg atg cct agg ggt cag ttt agg aag att tct cct ttt gtg agg				1200
Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg				
385		390	395	
gat ttg tgt aag aaa cac aac ttg cct tac aat atc gcg tct ttt act				1248
Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr				
405		410	415	
aaa gcg aat gtg ttt acg ctt aag acg ctg aga aat acg gcc att gag				1296
Lys Ala Asn Val Phe Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu				
420		425	430	
gct cgg gac ctc tct aat ccg ctc cca aag aat atg gtg tgg gaa gct				1344
Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Leu Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala				
435		440	445	
ctt aaa act ctc ggg tga				1362
Leu Lys Thr Leu Gly				
450				
<210> 72				
<211> 453				
<212> PRT				
<213> Primula farinosa				
<400> 72				
Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser				
1	5	10	15	
Ser Asp Leu Lys Ser His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile				
20	25	30		
His Gly Gln Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Ala Leu His Pro Gly				
35	40	45		
Gly Thr Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala				
50	55	60		
Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu				
65	70	75	80	
Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser				
85	90	95		

Asp Tyr Arg Lys Leu Leu Asp Asn Phe His Lys His Gly Leu Phe Arg  
 100 105 110

Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Phe Met Ile Ala Met  
 115 120 125

Phe Leu Met. Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val  
 130 135 140

His Leu Ala Ser Gly Gly Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly  
 145 150 155 160

Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys  
 165 170 175

Trp Asn Trp Phe Ala Gln Ile Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile  
 180 185 190

Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys  
 195 200 205

Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val  
 210 215 220

Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys  
 225 230 235 240

Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His  
 245 250 255

Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Leu Ala  
 260 265 270

Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Cys His Arg Ala  
 275 280 285

Gln Glu Val Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu  
 290 295 300

Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala  
 305 310 315 320

Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His  
 325 330 335

Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Gly Asn Asp Trp Phe  
 340 345 350

Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met  
 355 360 365

Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe  
370 375 380

Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg  
385 390 395 400

Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr  
405 410 415

Lys Ala Asn Val Phe Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu  
420 425 430

Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Leu Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala  
435 440 445

Leu Lys Thr Leu Gly  
450

<210> 73  
<211> 1362  
<212> DNA  
<213> Primula vialii

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1362)  
<223> Delta-6-Desaturase

<400> 73 48  
atg gct aac aaa tct cca cca aac ccc aaa aca ggt tac att acc agc  
Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser  
1 5 10 15  
tca gac ctg aaa ggg cac aac aaa gca gga gac cta tgg ata tca atc 96  
Ser Asp Leu Lys Gly His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile  
20 25 30  
cac ggg gag gta tac gac gtg tcc tcg tgg gcc ggc ctt cac ccg ggg 144  
His Gly Glu Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Gly Leu His Pro Gly  
35 40 45  
ggc agt gcc ccc ctc atg gcc ctc gca gga cac gac gta acc gac gct 192  
Gly Ser Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala  
50 55 60  
ttt cta gcg tat cat cct cct tct acc gcc cgc ctc ctc cct ccc ctc 240  
Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu  
65 70 75 80  
tcc acc aac ctc ctc ctt caa aac cac tcc gtc tcc ccc acc tcc tct 288  
Ser Thr Asn Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser  
85 90 95  
gac tac cgc aaa ctc ctc cac aac ttc cat aaa att ggt atg ttc cgc 336  
Asp Tyr Arg Lys Leu Leu His Asn Phe His Lys Ile Gly Met Phe Arg  
100 105 110  
gcc agg ggc cac act gct tac gcc acc ttc gtc atc atg ata gtg atg 384  
Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Ile Met Ile Val Met

115	120	125	
ttt cta acg agc gtg acc gga gtc ctt tgc agc gac agt gcg tgg gtc Phe Leu Thr Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val 130 135 140			432
cat ctg gct agc ggc gca gca atg ggg ttc gcc tgg atc cag tgc gga His Leu Ala Ser Gly Ala Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly 145 150 155 160			480
tgg ata ggt cac gac tct ggg cat tac cgg att atg tct gac agg aaa Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys 165 170 175			528
tgg aac tgg ttc gcg cag gtc ctg agc aca aac tgc ctc cag ggg atc Trp Asn Trp Phe Ala Gln Val Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile 180 185 190			576
agt atc ggg tgg tgg aag tgg aac cat aac gcc cac cac att gct tgc Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys 195 200 205			624
aat agc ctg gac tac gac ccc gac ctc cag tat atc cct ttg ctc gtg Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Phe Asn Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val 210 215 220			672
gtc tcc ccc aag ttc ttc aac tcc ctt act tct cgt ttc tac gac aag Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys 225 230 235 240			720
aag ctg aat ttc gac ggc gtg tca agg ttt ctg gtt tgc tac cag cac Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His 245 250 255			768
tgg acg ttt tat cca gtc atg tgt gtc gct agg cta aac atg atc gca Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Ile Ala 260 265 270			816
cag tcg ttt ata acg ctt ttc tcg agc agg gag gtg ggt cat agg gcg Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Gly His Arg Ala 275 280 285			864
caa gag att ttc gga ctt gct gtg ttt tgg gtt tgg ttt ccg ctc ctg Gln Glu Ile Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu 290 295 300			912
ctc tct tgc tta cct aat tgg agc gag agg att atg ttt ctg cta gcg Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Ser Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala 305 310 315 320			960
agc tat tcc gtt acg ggg ata cag cac gtg cag ttc agc ttg aac cat Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His 325 330 335			1008
ttt tct tcg gac gtc tac gtg ggc ccg cca gta gct aac gac tgg ttc Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Ala Asn Asp Trp Phe 340 345 350			1056
aag aaa cag act gct ggg aca ctt aac ata tcg tgc ccg gcg tgg atg Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met 355 360 365			1104
gac tgg ttc cat ggc ggg ttg cag ttt cag gtc gag cac cac ttg ttt Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe 370 375 380			1152
ccg cgg atg cct agg ggt cag ttt agg aag att tct cct ttt gtg agg Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg			1200

385	390	395	400	
gat ttg tgt aag aaa cac aac ttg cct tac aat atc gcg tct ttt act				1248
Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr.				
	405	410	415	
aaa gca aac gtg ttg acg ctt aag acg ctg aga aat acg gcc att gag				1296
Lys Ala Asn Val Leu Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu				
	420	425	430	
gct cgg gac ctc tct aat ccg acc cca aag aat atg gtg tgg gaa gcc				1344
Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Thr Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala				
	435	440	445	
gtc cac aca cac ggc tag				1362
Val His Thr His Gly				
	450			
<210> 74				
<211> 453				
<212> PRT				
<213> Primula vialii				
<400> 74				
Met Ala Asn Lys Ser Pro Pro Asn Pro Lys Thr Gly Tyr Ile Thr Ser				
1 5 10 15				
Ser Asp Leu Lys Gly His Asn Lys Ala Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile				
20 25 30				
His Gly Glu Val Tyr Asp Val Ser Ser Trp Ala Gly Leu His Pro Gly				
35 40 45				
Gly Ser Ala Pro Leu Met Ala Leu Ala Gly His Asp Val Thr Asp Ala				
50 55 60				
Phe Leu Ala Tyr His Pro Pro Ser Thr Ala Arg Leu Leu Pro Pro Leu				
65 70 75 80				
Ser Thr Asn Leu Leu Leu Gln Asn His Ser Val Ser Pro Thr Ser Ser				
85 90 95				
Asp Tyr Arg Lys Leu Leu His Asn Phe His Lys Ile Gly Met Phe Arg				
100 105 110				
Ala Arg Gly His Thr Ala Tyr Ala Thr Phe Val Ile Met Ile Val Met				
115 120 125				
Phe Leu Thr Ser Val Thr Gly Val Leu Cys Ser Asp Ser Ala Trp Val				
130 135 140				
His Leu Ala Ser Gly Ala Ala Met Gly Phe Ala Trp Ile Gln Cys Gly				
145 150 155 160				
Trp Ile Gly His Asp Ser Gly His Tyr Arg Ile Met Ser Asp Arg Lys				
165 170 175				

Trp Asn Trp Phe Ala Gln Val Leu Ser Thr Asn Cys Leu Gln Gly Ile  
 180 185 190

Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys  
 195 200 205

Asn Ser Leu Asp Tyr Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Leu Leu Val  
 210 215 220

Val Ser Pro Lys Phe Phe Asn Ser Leu Thr Ser Arg Phe Tyr Asp Lys  
 225 230 235 240

Lys Leu Asn Phe Asp Gly Val Ser Arg Phe Leu Val Cys Tyr Gln His  
 245 250 255

Trp Thr Phe Tyr Pro Val Met Cys Val Ala Arg Leu Asn Met Ile Ala  
 260 265 270

Gln Ser Phe Ile Thr Leu Phe Ser Ser Arg Glu Val Gly His Arg Ala  
 275 280 285

Gln Glu Ile Phe Gly Leu Ala Val Phe Trp Val Trp Phe Pro Leu Leu  
 290 295 300

Leu Ser Cys Leu Pro Asn Trp Ser Glu Arg Ile Met Phe Leu Leu Ala  
 305 310 315 320

Ser Tyr Ser Val Thr Gly Ile Gln His Val Gln Phe Ser Leu Asn His  
 325 330 335

Phe Ser Ser Asp Val Tyr Val Gly Pro Pro Val Ala Asn Asp Trp Phe  
 340 345 350

Lys Lys Gln Thr Ala Gly Thr Leu Asn Ile Ser Cys Pro Ala Trp Met  
 355 360 365

Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln Val Glu His His Leu Phe  
 370 375 380

Pro Arg Met Pro Arg Gly Gln Phe Arg Lys Ile Ser Pro Phe Val Arg  
 385 390 395 400

Asp Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr Asn Ile Ala Ser Phe Thr  
 405 410 415

Lys Ala Asn Val Leu Thr Leu Lys Thr Leu Arg Asn Thr Ala Ile Glu  
 420 425 430

Ala Arg Asp Leu Ser Asn Pro Thr Pro Lys Asn Met Val Trp Glu Ala  
 435 440 445

Val His Thr His Gly  
450

<210> 75  
<211> 903  
<212> DNA  
<213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(903)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 75  
atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg tcc gcc gcg tac 48  
Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr  
1 5 10 15  
gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tcg cac gcg aat ggc 96  
Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly  
20 25 30  
atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tcg ttg agg 144  
Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg  
35 40 45  
ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga 192  
Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly  
50 55 60  
ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg 240  
Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met  
65 70 75 80  
ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg 288  
Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly  
85 90 95  
atg ttc gcg cga gag atc tcg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca 336  
Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser  
100 105 110  
acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg 384  
Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val  
115 120 125  
tgg ttg cac tac aac aac aaa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc 432  
Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe  
130 135 140  
atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat 480  
Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr  
145 150 155 160  
cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg 528  
His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met  
165 170 175  
gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg 576  
Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser  
180 185 190  
ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc 624  
Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly



122

195	200	205	
att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln 210 215 220			672
ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His 225 230 235 240			720
tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met 245 250 255			768
ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser 260 265 270			816
cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala 275 280 285			864
ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp 290 295 300			903
<210> 76			
<211> 300			
<212> PRT			
<213> <i>Ostreococcus tauri</i>			
<400> 76			
Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr 1 5 10 15			
Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly 20 25 30			
Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg 35 40 45			
Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly 50 55 60			
Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met 65 70 75 80			
Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly 85 90 95			
Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser 100 105 110			
Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val 115 120 125			
Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe 130 135 140			

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr  
 145 150 155 160

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met  
 165 170 175

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser  
 180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly  
 195 200 205

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln  
 210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His  
 225 230 235 240

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met  
 245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser  
 260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala  
 275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp  
 290 295 300

<210> 77  
 <211> 903  
 <212> DNA  
 <213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(903)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 77 48  
 atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg ttc gcc gcg tac  
 Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr  
 1 5 10 15  
 gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tcg cac gcg aat ggc 96  
 Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly  
 20 25 30  
 atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tcg ttg agg 144  
 Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg  
 35 40 45  
 ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga 192  
 Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly

124

50	55	60	
ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met 65 70 75 80			240
ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly 85 90 95			288
atg ttc gcg cga gag atc tcg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser 100 105 110			336
acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val 115 120 125			384
tgg ttg cac tac aac aac aaa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe 130 135 140			432
atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr 145 150 155 160			480
cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Leu Val Cys His Leu Met 165 170 175			528
gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser 180 185 190			576
ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly 195 200 205			624
att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln 210 215 220			672
ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His 225 230 235 240			720
tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met 245 250 255			768
ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser 260 265 270			816
cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala 275 280 285			864
ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp 290 295 300			903

&lt;210&gt; 78

&lt;211&gt; 300

&lt;212&gt; PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

125

&lt;400&gt; 78

Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr  
 1 5 10 15

Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly  
 20 25 30

Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg  
 35 40 45

Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly  
 50 55 60

Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met  
 65 70 75 80

Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly  
 85 90 95

Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser  
 100 105 110

Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val  
 115 120 125

Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe  
 130 135 140

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr  
 145 150 155 160

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met  
 165 170 175

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser  
 180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly  
 195 200 205

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln  
 210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His  
 225 230 235 240

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met  
 245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser  
 260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala  
275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp  
290 295 300

<210> 79  
<211> 903  
<212> DNA  
<213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(903)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 79  
atg agc gcc tcc ggt gcg ctg ctg ccc gcg atc gcg tcc gcc gcg tac 48  
Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr  
1 5 10 15  
gcg tac gcg acg tac gcc tac gcc ttt gag tgg tcg cac gcg aat ggc 96  
Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly  
20 25 30  
atc gac aac gtc gac gcg cgc gag tgg atc ggt gcg ctg tcg ttg agg 144  
Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg  
35 40 45  
ctc ccg gcg atc gcg acg acg atg tac ctg ttg ttc tgc ctg gtc gga 192  
Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly  
50 55 60  
ccg agg ttg atg gcg aag cgc gag gcg ttc gac ccg aag ggg ttc atg 240  
Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met  
65 70 75 80  
ctg gcg tac aat gcg tat cag acg gcg ttc aac gtc gtc gtg ctc ggg 288  
Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly  
85 90 95  
atg ttc gcg cga gag atc tcg ggg ctg ggg cag ccc gtg tgg ggg tca 336  
Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser  
100 105 110  
acc atg ccg tgg agc gat aga aaa tcg ttt aag atc ctc ctc ggg gtg 384  
Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val  
115 120 125  
tgg ttg cac tac aac aac caa tat ttg gag cta ttg gac act gtg ttc 432  
Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe  
130 135 140  
atg gtt gcg cgc aag aag acg aag cag ttg agc ttc ttg cac gtt tat 480  
Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr  
145 150 155 160  
cat cac gcc ctg ttg atc tgg gcg tgg tgg ttg gtg tgt cac ttg atg 528  
His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met  
165 170 175  
gcc acg aac gat tgt atc gat gcc tac ttc ggc gcg gcg tgc aac tcg 576  
Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser

180	185	190	
ttc att cac atc gtg atg tac tcg tat tat ctc atg tcg gcg ctc ggc			624
Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly			
195	200	205	
att cga tgc ccg tgg aag cga tac atc acc cag gct caa atg ctc caa			672
Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln			
210	215	220	
ttc gtc att gtc ttc gcg cac gcc gtg ttc gtg ctg cgt cag aag cac			720
Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His			
225	230	235	240
tgc ccg gtc acc ctt cct tgg gcg caa atg ttc gtc atg acg aac atg			768
Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met			
	245	250	255
ctc gtg ctc ttc ggg aac ttc tac ctc aag gcg tac tcg aac aag tcg			816
Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser			
	260	265	270
cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg			864
Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala			
	275	280	285
ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa			903
Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp			
	290	295	300
<210> 80			
<211> 300			
<212> PRT			
<213> <i>Ostreococcus tauri</i>			
<400> 80			
Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Ser Ala Ala Tyr			
1	5	10	15
Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly			
	20	25	30
Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg			
	35	40	45
Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly			
	50	55	60
Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met			
	65	70	75
Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly			
	85	90	95
Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser			
	100	105	110
Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val			
	115	120	125

Trp Leu His Tyr Asn Asn Gln Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe  
130 135 140

Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr  
145 150 155 160

His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met  
165 170 175

Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser  
180 185 190

Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly  
195 200 205

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln  
210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His  
225 230 235 240

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met  
245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser  
260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala  
275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp  
290 295 300

<210> 81

<211> 879

<212> DNA

<213> *Ostreococcus tauri*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(879)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 81

atg agt ggc tta cgt gca ccc aac ttt tta cac aga ttc tgg aca aag 48  
Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys  
1 5 10 15

tgg gac tac gcg att tcc aaa gtc gtc ttc acg tgt gcc gac agt ttt 96  
Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe  
20 25 30

cag tgg gac atc ggg cca gtg agt tcg agt acg gcg cat tta ccc gcc 144  
Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala

35	40	45	
att gaa tcc cct acc cca ctg gtg act agc ctc ttg ttc tac tta gtc			192
Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val			
50	55	60	
aca gtt ttc ttg tgg tat ggt cgt tta acc agg agt tca gac aag aaa			240
Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys			
65	70	75 80	
att aga gag cct acg tgg tta aga aga ttc ata ata tgt cat aat gcg			288
Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala			
	85	90 95	
ttc ttg ata gtc ctc agt ctt tac atg tgc ctt ggt tgt gtg gcc caa			336
Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln			
	100	105 110	
gcg tat cag aat gga tat act tta tgg ggt aat gaa ttc aag gcc acg			384
Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr			
	115	120 125	
gaa act cag ctt gct ctc tac att tac att ttt tac gta agt aaa ata			432
Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile			
	130	135 140	
tac gag ttt gta gat act tac att atg ctt ctc aag aat aac ttg cgg			480
Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg			
	145	150 155 160	
caa gta aga ttc cta cac act tat cac cac agc acg att tcc ttt att			528
Gln Val Arg Phe Leu His Thr Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile			
	165	170 175	
tgg tgg atc att gct cgg agg gct ccg ggt ggt gat gct tac ttc agc			576
Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser			
	180	185 190	
gcg gcc ttg aac tca tgg gta cac gtg tgc atg tac acc tat tat cta			624
Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu			
	195	200 205	
tta tca acc ctt att gga aaa gaa gat cct aag cgt tcc aac tac ctt			672
Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu			
	210	215 220	
tgg tgg ggt cgc cac cta acg caa atg cag atg ctt cag ttt ttc ttc			720
Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe			
	225	230 235 240	
aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tgc ttc tct acg tat ccc aag			768
Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys			
	245	250 255	
ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc ggc ttg			816
Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu			
	260	265 270	
ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag			864
Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln			
	275	280 285	
aaa aaa cag cag tga			879
Lys Lys Gln Gln			
	290		



&lt;211&gt; 292

&lt;212&gt; PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

&lt;400&gt; 82

Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys  
1 5 10 15

Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe  
20 25 30

Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala  
35 40 45

Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val  
50 55 60

Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys  
65 70 75 80

Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala  
85 90 95

Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln  
100 105 110

Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr  
115 120 125

Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile  
130 135 140

Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg  
145 150 155 160

Gln Val Arg Phe Leu His Thr Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile  
165 170 175

Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser  
180 185 190

Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu  
195 200 205

Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu  
210 215 220

Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe  
225 230 235 240

Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys  
245 250 255

Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu  
260 265 270

Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln  
275 280 285

Lys Lys Gln Gln  
290

<210> 83  
<211> 831  
<212> DNA  
<213> *Thraustochytrium* sp.

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(831)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 83  
atg gac gtc gtc gag cag caa tgg cgc cgc ttc gtg gac gcc gtg gac 48  
Met Asp Val Val Glu Gln Gln Trp Arg Arg Phe Val Asp Ala Val Asp  
1 5 10 15  
aac gga atc gtg gag ttc atg gag cat gag aag ccc aac aag ctg aac 96  
Asn Gly Ile Val Glu Phe Met Glu His Glu Lys Pro Asn Lys Leu Asn  
20 25 30  
gag ggc aag ctc ttc acc tcg acc gag gag atg atg gcg ctt atc gtc 144  
Glu Gly Lys Leu Phe Thr Ser Thr Glu Glu Met Met Ala Leu Ile Val  
35 40 45  
ggc tac ctg gcg ttc gtg gtc ctc ggg tcc gcc ttc atg aag gcc ttt 192  
Gly Tyr Leu Ala Phe Val Val Leu Gly Ser Ala Phe Met Lys Ala Phe  
50 55 60  
gtc gat aag cct ttc gag ctc aag ttc ctc aag ctc gtg cac aac atc 240  
Val Asp Lys Pro Phe Glu Leu Lys Phe Leu Lys Leu Val His Asn Ile  
65 70 75 80  
ttc ctc acc ggt ctg tcc atg tac atg gcc acc gag tgc gcg cgc cag 288  
Phe Leu Thr Gly Leu Ser Met Tyr Met Ala Thr Glu Cys Ala Arg Gln  
85 90 95  
gca tac ctc gcc ggc tac aag ctc ttt ggc aac ccg atg gag aag ggc 336  
Ala Tyr Leu Gly Gly Tyr Lys Leu Phe Gly Asn Pro Met Glu Lys Gly  
100 105 110  
acc gag tcg cac gcc ccg ggc atg gcc aac atc atc tac atc ttc tac 384  
Thr Glu Ser His Ala Pro Gly Met Ala Asn Ile Ile Tyr Ile Phe Tyr  
115 120 125  
gtg agc aag ttc ctc gaa ttc ctc gac acc gtc ttc atg atc ctc ggc 432  
Val Ser Lys Phe Leu Glu Phe Leu Asp Thr Val Phe Met Ile Leu Gly  
130 135 140  
aag aag tgg aag cag ctc agc ttt ctc cac gtc tac cac cac gcg agc 480  
Lys Lys Trp Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Ser  
145 150 155 160  
atc agc ttc atc tgg ggc atc atc gcc cgc ttc gcg ccc ggt ggc gac 528  
Ile Ser Phe Ile Trp Gly Ile Ile Ala Arg Phe Ala Pro Gly Gly Asp

	- 165								170							175							
gcc tac ttc tct acc atc ctc aac agc agc gtg cat gtc gtg ctc tac																576							
Ala Tyr Phe Ser Thr Ile Leu Asn Ser Val His Val Val Leu Tyr																							
	180								185								190						
ggc tac tac gcc tcg acc acc ctc ggc tac acc ttc atg cgc ccg ctg																624							
Gly Tyr Tyr Ala Ser Thr Thr Leu Gly Tyr Thr Phe Met Arg Pro Leu																							
	195								200								205						
cgc ccg tac att acc acc att cag ctc acg cag ttc atg gcc atg gtc																672							
Arg Pro Tyr Ile Thr Thr Ile Gln Leu Thr Gln Phe Met Ala Met Val																							
	210								215								220						
gtc cag tcc gtc tat gac tac tac aac ccc tgc gac tac ccg cag ccc																720							
Val Gln Ser Val Tyr Asp Tyr Tyr Asn Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Pro																							
	225								230								235	240					
ctc gtc aag ctg ctc ttc tgg tac atg ctc acc atg ctc ggc ctc ttc																768							
Leu Val Lys Leu Leu Phe Trp Tyr Met Leu Thr Met Leu Gly Leu Phe																							
								245								250	255						
ggc aac ttc ttc gtg cag cag tac ctc aag ccc aag gcg ccc aag aag																816							
Gly Asn Phe Phe Val Gln Gln Tyr Leu Lys Pro Lys Ala Pro Lys Lys																							
	260								265								270						
cag aag acc atc taa																831							
Gln Lys Thr Ile																							
	275																						
<210>	84																						
<211>	276																						
<212>	PRT																						
<213>	Thraustochytrium sp.																						
<400>	84																						
Met Asp Val Val Glu Gln Gln Trp Arg Arg Phe Val Asp Ala Val Asp																							
1	5								10								15						
Asn Gly Ile Val Glu Phe Met Glu His Glu Lys Pro Asn Lys Leu Asn																							
	20								25								30						
Glu Gly Lys Leu Phe Thr Ser Thr Glu Glu Met Met Ala Leu Ile Val																							
	35								40								45						
Gly Tyr Leu Ala Phe Val Val Leu Gly Ser Ala Phe Met Lys Ala Phe																							
	50								55								60						
Val Asp Lys Pro Phe Glu Leu Lys Phe Leu Lys Leu Val His Asn Ile																							
	65								70								75	80					
Phe Leu Thr Gly Leu Ser Met Tyr Met Ala Thr Glu Cys Ala Arg Gln																							
	85								90								95						
Ala Tyr Leu Gly Gly Tyr Lys Leu Phe Gly Asn Pro Met Glu Lys Gly																							
	100								105								110						
Thr Glu Ser His Ala Pro Gly Met Ala Asn Ile Ile Tyr Ile Phe Tyr																							
	115								120								125						

Val Ser Lys Phe Leu Glu Phe Leu Asp Thr Val Phe Met Ile Leu Gly  
 130 135 140

Lys Lys Trp Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Ser  
 145 150 155 160

Ile Ser Phe Ile Trp Gly Ile Ile Ala Arg Phe Ala Pro Gly Gly Asp  
 165 170 175

Ala Tyr Phe Ser Thr Ile Leu Asn Ser Ser Val His Val Val Leu Tyr  
 180 185 190

Gly Tyr Tyr Ala Ser Thr Thr Leu Gly Tyr Thr Phe Met Arg Pro Leu  
 195 200 205

Arg Pro Tyr Ile Thr Thr Ile Gln Leu Thr Gln Phe Met Ala Met Val  
 210 215 220

Val Gln Ser Val Tyr Asp Tyr Tyr Asn Pro Cys Asp Tyr Pro Gln Pro  
 225 230 235 240

Leu Val Lys Leu Leu Phe Trp Tyr Met Leu Thr Met Leu Gly Leu Phe  
 245 250 255

Gly Asn Phe Phe Val Gln Gln Tyr Leu Lys Pro Lys Ala Pro Lys Lys  
 260 265 270

Gln Lys Thr Ile  
 275

<210> 85  
 <211> 1077  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1077)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 85  
 atg tgc tca cca ccg ccg tca caa tcc aaa aca aca tcc ctc cta gca 48  
 Met Cys Ser Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala  
 1 5 10 15

cgg tac acc acc gcc gcc ctc ctc ctc ctc acc ctc aca acg tgg tgc 96  
 Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys  
 20 25 30

cac ttc gcc ttc cca gcc gcc acc gcc aca ccc ggc ctc acc gcc gaa 144  
 His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu  
 35 40 45

atg cac tcc tac aaa gtc cca ctc ggt ctc acc gta ttc tac ctg ctg 192  
 Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu

50	55	60	
agt cta ccg tca cta aag tac gtt acg gac aac tac ctt gcc aaa aag Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys 65 70 75 80			240
tat gat atg aag tca ctc ctg acg gaa tca atg gtg ttg tac aat gtg Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val 85 90 95			288
gcg caa gtg ctg ctc aat ggg tgg acg gtg tat gcg att gtg gat gcg Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala 100 105 110			336
gtg atg aat aga gac cat cct ttt att gga agt aga agt ttg gtt ggg Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly 115 120 125			384
gcg gcg ttg cat agt ggg agc tcg tat gcg gtg tgg gtt cat tat tgt Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys 130 135 140			432
gat aag tat ttg gag ttc ttt gat acg tat ttt atg gtg ttg agg ggg Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly 145 150 155 160			480
aaa atg gac cag gtc tcc ttc ctc cac atc tac cac cac acg acc ata Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile 165 170 175			528
gcg tgg gca tgg tgg atc gcc ctc cgc ttc tcc ccc ggc gga gac att Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile 180 185 190			576
tac ttc ggg gca ctc ctc aac tcc atc atc cac gtc ctc atg tat tcc Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser 195 200 205			624
tac tac gcc ctt gcc cta ctc aag gtc agt tgt cca tgg aaa cga tac Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr 210 215 220			672
ttg act caa gct caa tta ttg caa ttc aca agt gtg gtg gtt tat acg Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr 225 230 235 240			720
ggg tgt acg ggt tat act cat tac tat cat acg aag cat gga gcg gat Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp 245 250 255			768
gag aca cag cct agt tta gga acg tat tat ttc tgt tgt gga gtg cag Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln 260 265 270			816
gtg ttt gag atg gtt agt ttg ttt gta ctc ttt tcc atc ttt tat aaa Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys 275 280 285			864
cga tcc tat tcg aag aag aac aag tca gga gga aag gat agc aag aag Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys 290 295 300			912
aat gat gat ggg aat aat gag gat caa tgt cac aag gct atg aag gat Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp 305 310 315 320			960
ata tcg gag ggt gcg aag gag gtt gtg ggg cat gca gcg aag gat gct Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala			1008

135

325 330 335  
 gga aag ttg gtg gct acg gcg agt aag gct gta aag agg aag gga act 1056  
 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr  
 340 345 350  
 cgt gtt act ggt gcc atg tag 1077  
 Arg Val Thr Gly Ala Met  
 355

<210> 86  
 <211> 358  
 <212> PRT  
 <213> Thalassiosira pseudonana

&lt;400&gt; 86

Met Cys Ser Pro Pro Pro Ser Gln Ser Lys Thr Thr Ser Leu Leu Ala  
 1 5 10 15

Arg Tyr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Leu Leu Thr Leu Thr Thr Trp Cys  
 20 25 30

His Phe Ala Phe Pro Ala Ala Thr Ala Thr Pro Gly Leu Thr Ala Glu  
 35 40 45

Met His Ser Tyr Lys Val Pro Leu Gly Leu Thr Val Phe Tyr Leu Leu  
 50 55 60

Ser Leu Pro Ser Leu Lys Tyr Val Thr Asp Asn Tyr Leu Ala Lys Lys  
 65 70 75 80

Tyr Asp Met Lys Ser Leu Leu Thr Glu Ser Met Val Leu Tyr Asn Val  
 85 90 95

Ala Gln Val Leu Leu Asn Gly Trp Thr Val Tyr Ala Ile Val Asp Ala  
 100 105 110

Val Met Asn Arg Asp His Pro Phe Ile Gly Ser Arg Ser Leu Val Gly  
 115 120 125

Ala Ala Leu His Ser Gly Ser Ser Tyr Ala Val Trp Val His Tyr Cys  
 130 135 140

Asp Lys Tyr Leu Glu Phe Phe Asp Thr Tyr Phe Met Val Leu Arg Gly  
 145 150 155 160

Lys Met Asp Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Thr Thr Ile  
 165 170 175

Ala Trp Ala Trp Trp Ile Ala Leu Arg Phe Ser Pro Gly Gly Asp Ile  
 180 185 190

Tyr Phe Gly Ala Leu Leu Asn Ser Ile Ile His Val Leu Met Tyr Ser  
 195 200 205

Tyr Tyr Ala Leu Ala Leu Leu Lys Val Ser Cys Pro Trp Lys Arg Tyr  
 210 215 220  
 Leu Thr Gln Ala Gln Leu Leu Gln Phe Thr Ser Val Val Val Tyr Thr  
 225 230 235 240  
 Gly Cys Thr Gly Tyr Thr His Tyr Tyr His Thr Lys His Gly Ala Asp  
 245 250 255  
 Glu Thr Gln Pro Ser Leu Gly Thr Tyr Tyr Phe Cys Cys Gly Val Gln  
 260 265 270  
 Val Phe Glu Met Val Ser Leu Phe Val Leu Phe Ser Ile Phe Tyr Lys  
 275 280 285  
 Arg Ser Tyr Ser Lys Lys Asn Lys Ser Gly Gly Lys Asp Ser Lys Lys  
 290 295 300  
 Asn Asp Asp Gly Asn Asn Glu Asp Gln Cys His Lys Ala Met Lys Asp  
 305 310 315 320  
 Ile Ser Glu Gly Ala Lys Glu Val Val Gly His Ala Ala Lys Asp Ala  
 325 330 335  
 Gly Lys Leu Val Ala Thr Ala Ser Lys Ala Val Lys Arg Lys Gly Thr  
 340 345 350  
 Arg Val Thr Gly Ala Met  
 355

<210> 87  
 <211> 1086  
 <212> DNA  
 <213> *Phytophthora infestans*  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1086)  
 <223> Omega-3-Desaturase

<400> 87  
 atg gcg acg aag gag gcg tat gtg ttc ccc act ctg acg gag atc aag 48  
 Met Ala Thr Lys Glu Ala Tyr Val Phe Pro Thr Leu Thr Glu Ile Lys  
 1 5 10 15  
 cgg tcg cta cct aaa gac tgt ttc gag gct tcg gtg cct ctg tcg ctc 96  
 Arg Ser Leu Pro Lys Asp Cys Phe Glu Ala Ser Val Pro Leu Ser Leu  
 20 25 30  
 tac tac acc gtg cgt tgt ctg gtg atc gcg gtg gct cta acc ttc ggt 144  
 Tyr Tyr Thr Val Arg Cys Leu Val Ile Ala Val Ala Leu Thr Phe Gly  
 35 40 45  
 ctc aac tac gct cgc gct ctg ccc gag gtc gag agc ttc tgg gct ctg 192  
 Leu Asn Tyr Ala Arg Ala Leu Pro Glu Val Glu Ser Phe Trp Ala Leu

50	55	60	
gac gcc gca ctc tgc acg ggc tac atc ttg ctg cag ggc atc gtg ttc Asp Ala Ala Leu Cys Thr Gly Tyr Ile Leu Leu Gln Gly Ile Val Phe 65 70 75 80			240
tgg ggc ttc ttc acg gtg ggc cac gat gcc ggc cac ggc gcc ttc tcg Trp Gly Phe Phe Thr Val Gly His Asp Ala Gly His Gly Ala Phe Ser 85 90 95			288
cgc tac cac ctg ctt aac ttc gtg gtg ggc act ttc atg cac tcg ctc Arg Tyr His Leu Leu Asn Phe Val Val Gly Thr Phe Met His Ser Leu 100 105 110			336
atc ctc acg ccc ttc gag tcg tgg aag ctc acg cac cgt cac cac cac Ile Leu Thr Pro Phe Glu Ser Trp Lys Leu Thr His Arg His His His 115 120 125			384
aag aac acg ggc aac att gac cgt gac gag gtc ttc tac ccg caa cgc Lys Asn Thr Gly Asn Ile Asp Arg Asp Glu Val Phe Tyr Pro Gln Arg 130 135 140			432
aag gcc gac gac cac ccg ctg tct cgc aac ctg att ctg gcg ctc ggg Lys Ala Asp Asp His Pro Leu Ser Arg Asn Leu Ile Leu Ala Leu Gly 145 150 155 160			480
gca gcg tgg ctc gcc tat ttg gtc gag ggc ttc cct cct cgt aag gtc Ala Ala Trp Leu Ala Tyr Leu Val Glu Gly Phe Pro Pro Arg Lys Val 165 170 175			528
aac cac ttc aac ccg ttc gag cct ctg ttc gtg cgt cag gtg tca gct Asn His Phe Asn Pro Phe Glu Pro Leu Phe Val Arg Gln Val Ser Ala 180 185 190			576
gtg gta atc tct ctt ctc gcc cac ttc ttc gtg gcc gga ctc tcc atc Val Val Ile Ser Leu Leu Ala His Phe Phe Val Ala Gly Leu Ser Ile 195 200 205			624
tat ctg agc ctc cag ctg ggc ctt aag acg atg gca atc tac tac tat Tyr Leu Ser Leu Gln Leu Gly Leu Lys Thr Met Ala Ile Tyr Tyr Tyr 210 215 220			672
gga cct gtt ttt gtg ttc ggc agc atg ctg gtc att acc acc ttc cta Gly Pro Val Phe Val Phe Gly Ser Met Leu Val Ile Thr Thr Phe Leu 225 230 235 240			720
cac cac aat gat gag gag acc cca tgg tac gcc gac tcg gag tgg acg His His Asn Asp Glu Glu Thr Pro Trp Tyr Ala Asp Ser Glu Trp Thr 245 250 255			768
tac gtc aag ggc aac ctc tcg tcc gtg gac cga tcg tac ggc gcg ctc Tyr Val Lys Gly Asn Leu Ser Ser Val Asp Arg Ser Tyr Gly Ala Leu 260 265 270			816
att gac aac ctg agc cac aac atc ggc acg cac cag atc cac cac ctt Ile Asp Asn Leu Ser His Asn Ile Gly Thr His Gln Ile His His Leu 275 280 285			864
ttc cct atc att ccg cac tac aaa ctc aag aaa gcc act gcg gcc ttc Phe Pro Ile Ile Pro His Tyr Lys Leu Lys Lys Ala Thr Ala Ala Phe 290 295 300			912
cac cag gct ttc cct gag ctc gtg cgc aag agc gac gag cca att atc His Gln Ala Phe Pro Glu Leu Val Arg Lys Ser Asp Glu Pro Ile Ile 305 310 315 320			960
aag gct ttc ttc cgg gtt gga cgt ctc tac gca aac tac ggc gtt gtg Lys Ala Phe Phe Arg Val Gly Arg Leu Tyr Ala Asn Tyr Gly Val Val 325 330 335 340			1008



138

```

          325                      330                      335
gac cag gag gcg aag ctc ttc acg cta aag gaa gcc aag gcg gcg acc      1056
Asp Gln Glu Ala Lys Leu Phe Thr Leu Lys Glu Ala Lys Ala Ala Thr
          340                      345                      350

gag gcg gcg gcc aag acc aag tcc acg taa      1086
Glu Ala Ala Ala Lys Thr Lys Ser Thr
          355                      360

<210> 88
<211> 361
<212> PRT
<213> Phytophthora infestans

<400> 88

Met Ala Thr Lys Glu Ala Tyr Val Phe Pro Thr Leu Thr Glu Ile Lys
 1                      5                      10                      15

Arg Ser Leu Pro Lys Asp Cys Phe Glu Ala Ser Val Pro Leu Ser Leu
          20                      25                      30

Tyr Tyr Thr Val Arg Cys Leu Val Ile Ala Val Ala Leu Thr Phe Gly
          35                      40                      45

Leu Asn Tyr Ala Arg Ala Leu Pro Glu Val Glu Ser Phe Trp Ala Leu
          50                      55                      60

Asp Ala Ala Leu Cys Thr Gly Tyr Ile Leu Leu Gln Gly Ile Val Phe
65                      70                      75                      80

Trp Gly Phe Phe Thr Val Gly His Asp Ala Gly His Gly Ala Phe Ser
          85                      90                      95

Arg Tyr His Leu Leu Asn Phe Val Val Gly Thr Phe Met His Ser Leu
          100                      105                      110

Ile Leu Thr Pro Phe Glu Ser Trp Lys Leu Thr His Arg His His His
          115                      120                      125

Lys Asn Thr Gly Asn Ile Asp Arg Asp Glu Val Phe Tyr Pro Gln Arg
          130                      135                      140

Lys Ala Asp Asp His Pro Leu Ser Arg Asn Leu Ile Leu Ala Leu Gly
145                      150                      155                      160

Ala Ala Trp Leu Ala Tyr Leu Val Glu Gly Phe Pro Pro Arg Lys Val
          165                      170                      175

Asn His Phe Asn Pro Phe Glu Pro Leu Phe Val Arg Gln Val Ser Ala
          180                      185                      190

Val Val Ile Ser Leu Leu Ala His Phe Phe Val Ala Gly Leu Ser Ile
          195                      200                      205

```

Tyr Leu Ser Leu Gln Leu Gly Leu Lys Thr Met Ala Ile Tyr Tyr Tyr  
210 215 220

Gly Pro Val Phe Val Phe Gly Ser Met Leu Val Ile Thr Thr Phe Leu  
225 230 235 240

His His Asn Asp Glu Glu Thr Pro Trp Tyr Ala Asp Ser Glu Trp Thr  
245 250 255

Tyr Val Lys Gly Asn Leu Ser Ser Val Asp Arg Ser Tyr Gly Ala Leu  
260 265 270

Ile Asp Asn Leu Ser His Asn Ile Gly Thr His Gln Ile His His Leu  
275 280 285

Phe Pro Ile Ile Pro His Tyr Lys Leu Lys Lys Ala Thr Ala Ala Phe  
290 295 300

His Gln Ala Phe Pro Glu Leu Val Arg Lys Ser Asp Glu Pro Ile Ile  
305 310 315 320

Lys Ala Phe Phe Arg Val Gly Arg Leu Tyr Ala Asn Tyr Gly Val Val  
325 330 335

Asp Gln Glu Ala Lys Leu Phe Thr Leu Lys Glu Ala Lys Ala Ala Thr  
340 345 350

Glu Ala Ala Ala Lys Thr Lys Ser Thr  
355 360

<210> 89  
<211> 1371  
<212> DNA  
<213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1371)  
<223> Delta-6-Desaturase

<400> 89  
atg tgc gtg gag acg gaa aat aac gat ggg atc ccc acg gtg gag atc 48  
Met Cys Val Glu Thr Glu Asn Asn Asp Gly Ile Pro Thr Val Glu Ile  
1 5 10 15  
gcg ttc gac ggt gag cgc gag cgg gcg gag gca aac gtg aag ctg tcc 96  
Ala Phe Asp Gly Glu Arg Glu Arg Ala Glu Ala Asn Val Lys Leu Ser  
20 25 30  
gcg gag aag atg gag ccg gcg gcg ctg gcg aag acg ttc gcg agg cgg 144  
Ala Glu Lys Met Glu Pro Ala Ala Leu Ala Lys Thr Phe Ala Arg Arg  
35 40 45  
tac gtc gtg atc gag ggg gtg gag tac gat gtg acg gat ttt aag cac 192  
Tyr Val Val Ile Glu Gly Val Glu Tyr Asp Val Thr Asp Phe Lys His

140

50	55	60	
ccg gga gga acg gtt att ttc tat gcg ttg tca aac acc ggg gcg gac Pro Gly Gly Thr Val Ile Phe Tyr Ala Leu Ser Asn Thr Gly Ala Asp 65 70 75 80			240
gcg acg gaa gcg ttc aag gag ttt cat cat cgg tcg aga aag gcg agg Ala Thr Glu Ala Phe Lys Glu Phe His His Arg Ser Arg Lys Ala Arg 85 90 95			288
aaa gcc ttg gcg gcg ctc ccg tct cga ccg gcc aag acg gcc aag gtg Lys Ala Leu Ala Ala Leu Pro Ser Arg Pro Ala Lys Thr Ala Lys Val 100 105 110			336
gac gac gcg gag atg ctc caa gat ttc gcc aag tgg cgg aaa gaa ttg Asp Asp Ala Glu Met Leu Gln Asp Phe Ala Lys Trp Arg Lys Glu Leu 115 120 125			384
gag aga gat gga ttc ttc aag ccc tct ccg gcg cac gtg gcg tat cgc Glu Arg Asp Gly Phe Phe Lys Pro Ser Pro Ala His Val Ala Tyr Arg 130 135 140			432
ttc gcc gag ctc gcg gcg atg tac gct ctc ggg acg tac ctg atg tac Phe Ala Glu Leu Ala Ala Met Tyr Ala Leu Gly Thr Tyr Leu Met Tyr 145 150 155 160			480
gct cga tac gtc gtc tcc tcg gtg ctc gtg tac gct tgc ttt ttc ggc Ala Arg Tyr Val Val Ser Ser Val Leu Val Tyr Ala Cys Phe Phe Gly 165 170 175			528
gcc cga tgc ggt tgg gtg cag cac gag ggc gga cac agc tcg ctg acg Ala Arg Cys Gly Trp Val Gln His Glu Gly Gly His Ser Ser Leu Thr 180 185 190			576
ggc aac att tgg tgg gac aag cgc atc cag gcc ttc aca gcc ggg ttc Gly Asn Ile Trp Trp Asp Lys Arg Ile Gln Ala Phe Thr Ala Gly Phe 195 200 205			624
ggt ctc gcc ggt agc ggc gac atg tgg aac tcg atg cac aac aag cat Gly Leu Ala Gly Ser Gly Asp Met Trp Asn Ser Met His Asn Lys His 210 215 220			672
cac gcg acg cct caa aag gtt cgt cac gac atg gat ctg gac acc acc His Ala Thr Pro Gln Lys Val Arg His Asp Met Asp Leu Asp Thr Thr 225 230 235 240			720
ccc gcg gtg gcg ttc ttc aac acc gcg gtg gaa gac aat cgt ccc cgt Pro Ala Val Ala Phe Phe Asn Thr Ala Val Glu Asp Asn Arg Pro Arg 245 250 255			768
ggc ttt agc aag tac tgg ttg cgc ctt cag gcg tgg acc ttc atc ccc Gly Phe Ser Lys Tyr Trp Leu Arg Leu Gln Ala Trp Thr Phe Ile Pro 260 265 270			816
gtg acg tcc ggc ttg gtg ctc ctt ttc tgg atg ttt ttc ctc cac ccc Val Thr Ser Gly Leu Val Leu Leu Phe Trp Met Phe Phe Leu His Pro 275 280 285			864
tcc aag gct ttg aag ggt ggc aag tac gaa gag ttg gtg tgg atg ctc Ser Lys Ala Leu Lys Gly Gly Lys Tyr Glu Glu Leu Val Trp Met Leu 290 295 300			912
gcc gcg cac gtc atc cgc acg tgg acg atc aag gcg gtg acc gga ttc Ala Ala His Val Ile Arg Thr Trp Thr Ile Lys Ala Val Thr Gly Phe 305 310 315 320			960
acc gcg atg cag tcc tac ggc tta ttt ttg gcg acg agc tgg gtg agc Thr Ala Met Gln Ser Tyr Gly Leu Phe Leu Ala Thr Ser Trp Val Ser			1008

## 141

325	330	335	
ggc tgc tat ctg ttt gca cac ttc tcc acg tcg cac acg cac ctg gat Gly Cys Tyr Leu Phe Ala His Phe Ser Thr Ser His Thr His Leu Asp 340 345 350			1056
gtg gtg ccc gcg gac gag cat ctc tcc tgg gtt cga tac gcc gtc gat Val Val Pro Ala Asp Glu His Leu Ser Trp Val Arg Tyr Ala Val Asp 355 360 365			1104
cac acg atc gac atc gat ccg agt caa ggt tgg gtg aac tgg ttg atg His Thr Ile Asp Ile Asp Pro Ser Gln Gly Trp Val Asn Trp Leu Met 370 375 380			1152
ggc tac ctc aac tgc caa gtc atc cac cac ctc ttt ccg agc atg ccg Gly Tyr Leu Asn Cys Gln Val Ile His His Leu Phe Pro Ser Met Pro 385 390 395 400			1200
cag ttc cgc cag ccc gag gta tct cgc cgc ttc gtc gcc ttt gcg aaa Gln Phe Arg Gln Pro Glu Val Ser Arg Arg Phe Val Ala Phe Ala Lys 405 410 415			1248
aag tgg aac ctc aac tac aag gtc atg acc tac gcc ggt gcg tgg aag Lys Trp Asn Leu Asn Tyr Lys Val Met Thr Tyr Ala Gly Ala Trp Lys 420 425 430			1296
gca acg ctc gga aac ctc gac aac gtg ggt aag cac tac tac gtg cac Ala Thr Leu Gly Asn Leu Asp Asn Val Gly Lys His Tyr Tyr Val His 435 440 445			1344
ggc caa cac tcc gga aag acg gcg taa Gly Gln His Ser Gly Lys Thr Ala 450 455			1371
<210> 90			
<211> 456			
<212> PRT			
<213> <i>Ostreococcus tauri</i>			
<400> 90			
Met Cys Val Glu Thr Glu Asn Asn Asp Gly Ile Pro Thr Val Glu Ile 1 5 10 15			
Ala Phe Asp Gly Glu Arg Glu Arg Ala Glu Ala Asn Val Lys Leu Ser 20 25 30			
Ala Glu Lys Met Glu Pro Ala Ala Leu Ala Lys Thr Phe Ala Arg Arg 35 40 45			
Tyr Val Val Ile Glu Gly Val Glu Tyr Asp Val Thr Asp Phe Lys His 50 55 60			
Pro Gly Gly Thr Val Ile Phe Tyr Ala Leu Ser Asn Thr Gly Ala Asp 65 70 75 80			
Ala Thr Glu Ala Phe Lys Glu Phe His His Arg Ser Arg Lys Ala Arg 85 90 95			
Lys Ala Leu Ala Ala Leu Pro Ser Arg Pro Ala Lys Thr Ala Lys Val 100 105 110			

Asp Asp Ala Glu Met Leu Gln Asp Phe Ala Lys Trp Arg Lys Glu Leu  
 115 120 125  
 Glu Arg Asp Gly Phe Phe Lys Pro Ser Pro Ala His Val Ala Tyr Arg  
 130 135 140  
 Phe Ala Glu Leu Ala Ala Met Tyr Ala Leu Gly Thr Tyr Leu Met Tyr  
 145 150 155 160  
 Ala Arg Tyr Val Val Ser Ser Val Leu Val Tyr Ala Cys Phe Phe Gly  
 165 170 175  
 Ala Arg Cys Gly Trp Val Gln His Glu Gly Gly His Ser Ser Leu Thr  
 180 185 190  
 Gly Asn Ile Trp Trp Asp Lys Arg Ile Gln Ala Phe Thr Ala Gly Phe  
 195 200 205  
 Gly Leu Ala Gly Ser Gly Asp Met Trp Asn Ser Met His Asn Lys His  
 210 215 220  
 His Ala Thr Pro Gln Lys Val Arg His Asp Met Asp Leu Asp Thr Thr  
 225 230 235 240  
 Pro Ala Val Ala Phe Phe Asn Thr Ala Val Glu Asp Asn Arg Pro Arg  
 245 250 255  
 Gly Phe Ser Lys Tyr Trp Leu Arg Leu Gln Ala Trp Thr Phe Ile Pro  
 260 265 270  
 Val Thr Ser Gly Leu Val Leu Leu Phe Trp Met Phe Phe Leu His Pro  
 275 280 285  
 Ser Lys Ala Leu Lys Gly Gly Lys Tyr Glu Glu Leu Val Trp Met Leu  
 290 295 300  
 Ala Ala His Val Ile Arg Thr Trp Thr Ile Lys Ala Val Thr Gly Phe  
 305 310 315 320  
 Thr Ala Met Gln Ser Tyr Gly Leu Phe Leu Ala Thr Ser Trp Val Ser  
 325 330 335  
 Gly Cys Tyr Leu Phe Ala His Phe Ser Thr Ser His Thr His Leu Asp  
 340 345 350  
 Val Val Pro Ala Asp Glu His Leu Ser Trp Val Arg Tyr Ala Val Asp  
 355 360 365  
 His Thr Ile Asp Ile Asp Pro Ser Gln Gly Trp Val Asn Trp Leu Met  
 370 375 380

Gly Tyr Leu Asn Cys Gln Val Ile His His Leu Phe Pro Ser Met Pro  
385 390 395 400

Gln Phe Arg Gln Pro Glu Val Ser Arg Arg Phe Val Ala Phe Ala Lys  
405 410 415

Lys Trp Asn Leu Asn Tyr Lys Val Met Thr Tyr Ala Gly Ala Trp Lys  
420 425 430

Ala Thr Leu Gly Asn Leu Asp Asn Val Gly Lys His Tyr Tyr Val His  
435 440 445

Gly Gln His Ser Gly Lys Thr Ala  
450 455

<210> 91  
<211> 606  
<212> DNA  
<213> *Ostreococcus tauri*  
  
<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(606).  
<223> Delta-5-Desaturase

<400> 91  
atg tac ggt ttg cta tcg ctc aag tcg tgc ttc gtc gac gat ttc aac 48  
Met Tyr Gly Leu Ser Leu Lys Ser Cys Phe Val Asp Asp Phe Asn  
1 5 10 15  
gcc tac ttc tcc gga cgc atc ggc tgg gtc aag gtg atg aag ttc acc 96  
Ala Tyr Phe Ser Gly Arg Ile Gly Trp Val Lys Val Met Lys Phe Thr  
20 25 30  
cgc ggc gag gcg atc gca ttt tgg ggc acc aag ctc ttg tgg gcc gcg 144  
Arg Gly Glu Ala Ile Ala Phe Trp Gly Thr Lys Leu Leu Trp Ala Ala  
35 40 45  
tat tac ctc gcg ttg ccg cta aag atg tcg cat cgg ccg ctc gga gaa 192  
Tyr Tyr Leu Ala Leu Pro Leu Lys Met Ser His Arg Pro Leu Gly Glu  
50 55 60  
ctc ctc gca ctc tgg gcc gtc acc gag ttc gtc acc gga tgg ctg ttg 240  
Leu Leu Ala Leu Trp Ala Val Thr Glu Phe Val Thr Gly Trp Leu Leu  
65 70 75 80  
gcg ttc atg ttc caa gtc gcc cac gtc gtc ggc gag gtt cac ttc ttc 288  
Ala Phe Met Phe Gln Val Ala His Val Val Gly Glu Val His Phe Phe  
85 90 95  
acc ctc gac gcg aag aac cgc gtg aac ttg gga tgg gga gag gca cag 336  
Thr Leu Asp Ala Lys Asn Arg Val Asn Leu Gly Trp Gly Glu Ala Gln  
100 105 110  
ctc atg tcg agc gcg gat ttc gcc cac gga tcc aag ttt tgg acg cac 384  
Leu Met Ser Ser Ala Asp Phe Ala His Gly Ser Lys Phe Trp Thr His  
115 120 125  
ttc tcc gga ggc tta aac tac caa gtc gtc cac cat ctc ttc ccg gcc 432  
Phe Ser Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Val Val His His Leu Phe Pro Gly

144

130                      135                      140  
 gtc tgc cac gtg cac tat ccc gcg ctc gcg cca att att aag gcg gca      480  
 Val Cys His Val His Tyr Pro Ala Leu Ala Pro Ile Ile Lys Ala Ala  
 145                      150                      155                      160  
 gct gag aag cac gcc ctc cac tac cag att tac ccc acg ttt tgg tcc      528  
 Ala Glu Lys His Gly Leu His Tyr Gln Ile Tyr Pro Thr Phe Trp Ser  
 165                      170                      175  
 gcc ctg cgc gcg cac ttc cgg cac ctc gcc aac gtc gcc cgc gcc gcg      576  
 Ala Leu Arg Ala His Phe Arg His Leu Ala Asn Val Gly Arg Ala Ala  
 180                      185                      190  
 tac gta ccg tcc ctc caa acc gtc gga tga      606  
 Tyr Val Pro Ser Leu Gln Thr Val Gly  
 195                      200  
  
 <210> 92  
 <211> 201  
 <212> PRT  
 <213> *Ostreococcus tauri*  
  
 <400> 92  
 Met Tyr Gly Leu Leu Ser Leu Lys Ser Cys Phe Val Asp Asp Phe Asn  
 1                      5                      10                      15  
 Ala Tyr Phe Ser Gly Arg Ile Gly Trp Val Lys Val Met Lys Phe Thr  
 20                      25                      30  
 Arg Gly Glu Ala Ile Ala Phe Trp Gly Thr Lys Leu Leu Trp Ala Ala  
 35                      40                      45  
 Tyr Tyr Leu Ala Leu Pro Leu Lys Met Ser His Arg Pro Leu Gly Glu  
 50                      55                      60  
 Leu Leu Ala Leu Trp Ala Val Thr Glu Phe Val Thr Gly Trp Leu Leu  
 65                      70                      75                      80  
 Ala Phe Met Phe Gln Val Ala His Val Val Gly Glu Val His Phe Phe  
 85                      90                      95  
 Thr Leu Asp Ala Lys Asn Arg Val Asn Leu Gly Trp Gly Glu Ala Gln  
 100                      105                      110  
 Leu Met Ser Ser Ala Asp Phe Ala His Gly Ser Lys Phe Trp Thr His  
 115                      120                      125  
 Phe Ser Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Val Val His His Leu Phe Pro Gly  
 130                      135                      140  
 Val Cys His Val His Tyr Pro Ala Leu Ala Pro Ile Ile Lys Ala Ala  
 145                      150                      155                      160  
 Ala Glu Lys His Gly Leu His Tyr Gln Ile Tyr Pro Thr Phe Trp Ser  
 165                      170                      175

Ala Leu Arg Ala His Phe Arg His Leu Ala Asn Val Gly Arg Ala Ala  
 180 185 190

Tyr Val Pro Ser Leu Gln Thr Val Gly  
 195 200

<210> 93  
 <211> 714  
 <212> DNA  
 <213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(714)  
 <223> Delta-5-Desaturase

<400> 93  
 atg gtg agc cat cac tcg tac tgt aac gac gcg gat ttg gat cag gat 48  
 Met Val Ser His His Ser Tyr Cys Asn Asp Ala Asp Leu Asp Gln Asp  
 1 5 10 15  
 gtg tac acc gca ctg ccg ctc ctg cgc ctg gac ccg tct cag gag ttg 96  
 Val Tyr Thr Ala Leu Pro Leu Leu Arg Leu Asp Pro Ser Gln Glu Leu  
 20 25 30  
 aag tgg ttt cat cga tac cag gcg ttt tac gcc ccg ctc atg tgg ccg 144  
 Lys Trp Phe His Arg Tyr Gln Ala Phe Tyr Ala Pro Leu Met Trp Pro  
 35 40 45  
 ttt ttg tgg ctc gcg gcg cag ttt ggc gac gcg cag aac atc ctg atc 192  
 Phe Leu Trp Leu Ala Ala Gln Phe Gly Asp Ala Gln Asn Ile Leu Ile  
 50 55 60  
 gac cga gcg tcg ccg ggc gtc gcg tac aag gga ttg atg gcg aac gag 240  
 Asp Arg Ala Ser Pro Gly Val Ala Tyr Lys Gly Leu Met Ala Asn Glu  
 65 70 75 80  
 gtc gcg ctg tac gtt ctc ggt aag gtt tta cac ttt ggt ctt ctc ctc 288  
 Val Ala Leu Tyr Val Leu Gly Lys Val Leu His Phe Gly Leu Leu Leu  
 85 90 95  
 ggc gtt cct gcg tac ttg cac gga ttg tcc aac gcg atc gtt cca ttc 336  
 Gly Val Pro Ala Tyr Leu His Gly Leu Ser Asn Ala Ile Val Pro Phe  
 100 105 110  
 ttg gcg tac ggc gca ttc ggc tcc ttc gtc ctg tgc tgg ttc ttc atc 384  
 Leu Ala Tyr Gly Ala Phe Gly Ser Phe Val Leu Cys Trp Phe Phe Ile  
 115 120 125  
 gtc agc cat aac ctc gaa gcg ctg aca ccc gtt aac ctt aac aag tcc 432  
 Val Ser His Asn Leu Glu Ala Leu Thr Pro Val Asn Leu Asn Lys Ser  
 130 135 140  
 acg aag aac gac tgg ggg gcg tgg cag atc gag aca tcg gcg tct tgg 480  
 Thr Lys Asn Asp Trp Gly Ala Trp Gln Ile Glu Thr Ser Ala Ser Trp  
 145 150 155 160  
 ggc aac gcg ttc tgg agc ttc ttc tct gga ggt ctg aac ctg caa atc 528  
 Gly Asn Ala Phe Trp Ser Phe Phe Ser Gly Gly Leu Asn Leu Gln Ile  
 165 170 175  
 gag cac cac ctc ttc ccg ggc atg gcg cac aac ctg tac ccg aag atg 576  
 Glu His His Leu Phe Pro Gly Met Ala His Asn Leu Tyr Pro Lys Met



146

180	185	190	
gtg ccg atc atc aag gac gag tgt gcg aaa gcg ggc gtt cgc tac acc			624
Val Pro Ile Ile Lys Asp Glu Cys Ala Lys Ala Gly Val Arg Tyr Thr			
195	200	205	
ggt tac ggt ggc tac acc ggc ctg ctc ccg atc acc cgc gac atg ttc			672
Gly Tyr Gly Gly Tyr Thr Gly Leu Leu Pro Ile Thr Arg Asp Met Phe			
210	215	220	
tcc tac ctc cat aag tgt ggc cga acg gcg aaa cta gcc taa			714
Ser Tyr Leu His Lys Cys Gly Arg Thr Ala Lys Leu Ala			
225	230	235	
 <210> 94			
<211> 237			
<212> PRT			
<213> Ostreococcus tauri			
 <400> 94			
Met Val Ser His His Ser Tyr Cys Asn Asp Ala Asp Leu Asp Gln Asp			
1	5	10	15
Val Tyr Thr Ala Leu Pro Leu Leu Arg Leu Asp Pro Ser Gln Glu Leu			
20	25	30	
Lys Trp Phe His Arg Tyr Gln Ala Phe Tyr Ala Pro Leu Met Trp Pro			
35	40	45	
Phe Leu Trp Leu Ala Ala Gln Phe Gly Asp Ala Gln Asn Ile Leu Ile			
50	55	60	
Asp Arg Ala Ser Pro Gly Val Ala Tyr Lys Gly Leu Met Ala Asn Glu			
65	70	75	80
Val Ala Leu Tyr Val Leu Gly Lys Val Leu His Phe Gly Leu Leu Leu			
85	90	95	
Gly Val Pro Ala Tyr Leu His Gly Leu Ser Asn Ala Ile Val Pro Phe			
100	105	110	
Leu Ala Tyr Gly Ala Phe Gly Ser Phe Val Leu Cys Trp Phe Phe Ile			
115	120	125	
Val Ser His Asn Leu Glu Ala Leu Thr Pro Val Asn Leu Asn Lys Ser			
130	135	140	
Thr Lys Asn Asp Trp Gly Ala Trp Gln Ile Glu Thr Ser Ala Ser Trp			
145	150	155	160
Gly Asn Ala Phe Trp Ser Phe Phe Ser Gly Gly Leu Asn Leu Gln Ile			
165	170	175	
Glu His His Leu Phe Pro Gly Met Ala His Asn Leu Tyr Pro Lys Met			
180	185	190	

Val Pro Ile Ile Lys Asp Glu Cys Ala Lys Ala Gly Val Arg Tyr Thr  
195 200 205

Gly Tyr Gly Gly Tyr Thr Gly Leu Leu Pro Ile Thr Arg Asp Met Phe  
210 215 220

Ser Tyr Leu His Lys Cys Gly Arg Thr Ala Lys Leu Ala  
225 230 235

<210> 95  
<211> 1611  
<212> DNA  
<213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1611)  
<223> Delta-4-Desaturase

<400> 95  
atg tac ctc gga cgc ggc cgt ctc gag agc ggg acg acg cga ggg atg 48  
Met Tyr Leu Gly Arg Gly Arg Leu Glu Ser Gly Thr Thr Arg Gly Met  
1 5 10 15  
atg cgg acg cac gcg cgg cga ccg tcg acg acg tcg aat ccg tgc gcg 96  
Met Arg Thr His Ala Arg Arg Pro Ser Thr Thr Ser Asn Pro Cys Ala  
20 25 30  
cgg tca cgc gtg cgt aag acg acg gag cga tcg ctc gcg cga gtg cga 144  
Arg Ser Arg Val Arg Lys Thr Thr Glu Arg Ser Leu Ala Arg Val Arg  
35 40 45  
cga tcg acg agt gag aag gga agc gcg ctc gtg ctc gag cga gag agc 192  
Arg Ser Thr Ser Glu Lys Gly Ser Ala Leu Val Leu Glu Arg Glu Ser  
50 55 60  
gaa cgg gag aag gag gag gga ggg aaa gcg cga gcg gag gga ttg cga 240  
Glu Arg Glu Lys Glu Gly Gly Lys Ala Arg Ala Glu Gly Leu Arg  
65 70 75 80  
ttc caa cgc ccg gac gtc gcc gcg ccg ggg gga gcg gat cct tgg aac 288  
Phe Gln Arg Pro Asp Val Ala Ala Pro Gly Gly Ala Asp Pro Trp Asn  
85 90 95  
gac gag aag tgg aca aag acc aag tgg acg gta ttc aga gac gtc gcg 336  
Asp Glu Lys Trp Thr Lys Thr Lys Trp Thr Val Phe Arg Asp Val Ala  
100 105 110  
tac gat ctc gat cct ttc ttc gct cga cac ccc gga gga gac tgg ctc 384  
Tyr Asp Leu Asp Pro Phe Phe Ala Arg His Pro Gly Gly Asp Trp Leu  
115 120 125  
ctg aac ttg gcc gtg gga cga gac tgc acc gcg ctc atc gaa tcc tat 432  
Leu Asn Leu Ala Val Gly Arg Asp Cys Thr Ala Leu Ile Glu Ser Tyr  
130 135 140  
cac ttg cga cca gag gtg gcg acg gct cgt ttc aga atg ctg ccc aaa 480  
His Leu Arg Pro Glu Val Ala Thr Ala Arg Phe Arg Met Leu Pro Lys  
145 150 155 160  
ctc gag gat ttt ccc gtc gag gcc gtg ccc aag tcc ccg aga ccg aac 528  
Leu Glu Asp Phe Pro Val Glu Ala Val Pro Lys Ser Pro Arg Pro Asn

165

170

175

gat Asp	tct Ser	ccg Pro	tta Leu 180	tac Tyr	aac Asn	aac Asn	att Ile	cgc Arg 185	aac Asn	cga Arg	gtc Val	cgc Arg	gaa Glu 190	gag Glu	ctc Leu	576
ttc Phe	cca Pro	gag Glu 195	gag Glu	gga Gly	aag Lys	aat Asn	atg Met 200	cac His	aga Arg	cag Gln	ggc Gly 205	ggc Gly	gac Asp	cac His	ggc Gly	624
gac Asp	ggt Gly 210	gac Asp	gat Asp	tct Ser	ggg Gly	ttt Phe 215	cgc Arg	cgc Arg	ctt Leu	ttg Leu	ctt Leu 220	atg Met	ccg Pro	tgt Cys	acc Thr	672
tat Tyr 225	tcc Ser	ctt Leu	ccg Pro	ggg Gly	gtt Val 230	cct Pro	ttc Phe	cgg Arg	ctg Leu	cct Pro 235	cct Pro	cgg Arg	gtc Val	tcg Ser	cgg Arg 240	720
ggg Gly	cgt Arg	gga Gly	ttg Leu	gtc Val 245	tca Ser	cga Arg	ttc Phe	agg Arg	cac His 250	tgc Cys	gcc Ala	aac Asn	cac His	ggc Gly 255	gcg Ala	768
atg Met	tct Ser	cct Pro 260	tcg Ser	ccg Pro	gcc Ala	gtt Val	aac Asn	ggc Gly 265	gtc Val	ctc Leu	ggt Gly	ttg Leu 270	acg Thr	aac Asn	gat Asp	816
ctc Leu	atc Ile	ggc Gly 275	ggc Gly	tcg Ser	tcc Ser	ttg Leu	atg Met 280	tgg Trp	aga Arg	tat Tyr	cac His	cac His 285	caa Gln	gtc Val	agc Ser	864
cac His 290	cac His	att Ile	cat His	tgc Cys	aac Asn	gac Asp 295	aac Asn	gcc Ala	atg Met	gat Asp	caa Gln 300	gac Asp	gtg Val	tac Tyr	acg Thr	912
gcg Ala 305	atg Met	cca Pro	tta Leu	ttg Leu	cgt Arg 310	ttc Phe	gac Asp	gct Ala	cgc Arg	cgg Arg 315	ccc Pro	aag Lys	tcc Ser	tgg Trp	tac Tyr 320	960
cat His	cgc Arg	ttc Phe	cag Gln	cag Gln 325	tgg Trp	tac Tyr	atg Met	ttt Phe	tta Leu 330	gcg Ala	ttc Phe	ccg Pro	ttg Leu 335	ttg Leu	cag Gln	1008
gtt Val	gcc Ala	ttc Phe	caa Gln 340	gtc Val	gga Gly	gac Asp	att Ile	gcc Ala 345	gca Ala	ctg Leu	ttc Phe	acg Thr 350	cgt Arg	gat Asp	acc Thr	1056
gaa Glu	ggc Gly	gct Ala 355	aag Lys	ctt Leu	cac His	ggg Gly	gcg Ala 360	acg Thr	acg Thr	tgg Trp	gag Glu	ctt Leu 365	acc Thr	acg Thr	gtt Val	1104
gtc Val	ctc Leu 370	ggt Gly	aag Lys	att Ile	gtg Val	cac His 375	ttc Phe	ggt Gly	ctt Leu	ttg Leu 380	ttg Leu	ggg Gly	ccg Pro	ttg Leu	atg Met	1152
aac Asn 385	cac His	gcg Ala	gtg Val	agt Ser	tct Ser 390	gtt Val	ttg Leu	ctg Leu	ggg Gly	atc Ile 395	gtc Val	ggt Gly	ttc Phe	atg Met	gcg Ala 400	1200
tgc Cys	caa Gln	ggt Gly	ata Ile	gtt Val 405	ctg Leu	gcg Ala	tgc Cys	acg Thr	ttt Phe 410	gct Ala	gtg Val	agt Ser	cac His	aat Asn 415	gtc Val	1248
gcg Ala	gag Glu	gcg Ala 420	aag Lys	ata Ile	cct Pro	gag Glu	gac Asp	acc Thr 425	gga Gly	gga Gly	gaa Glu	gcc Ala	tgg Trp 430	gag Glu	aga Arg	1296
gat Asp	tgg Trp	ggt Gly	gtc Val	cag Gln	cag Gln	ttg Leu	gtg Val	act Thr	agc Ser	gcc Ala	gac Asp	tgg Trp	ggt Gly	gga Gly	aag Lys	1344

149

435	440	445	
ata ggt aac ttc ttc acg ggt ggc ctc aac ttg caa gtt gag cac cac Ile Gly Asn Phe Phe Thr Gly Gly Leu Asn Leu Gln Val Glu His His 450 455 460			1392
ttg ttt ccg gcg att tgc ttc gtc cac tac ccg gac atc gcg aag atc Leu Phe Pro Ala Ile Cys Phe Val His Tyr Pro Asp Ile Ala Lys Ile 465 470 475 480			1440
gtg aag gaa gaa gcg gcc aag ctc aac atc cct tac gcg tct tac agg Val Lys Glu Glu Ala Ala Lys Leu Asn Ile Pro Tyr Ala Ser Tyr Arg 485 490 495			1488
act ctt cct ggt att ttc gtc caa ttc tgg aga ttt atg aag gac atg Thr Leu Pro Gly Ile Phe Val Gln Phe Trp Arg Phe Met Lys Asp Met 500 505 510			1536
ggc acg gct gag caa att ggt gaa gtt cca ttg ccg aag att ccc aac Gly Thr Ala Glu Gln Ile Gly Glu Val Pro Leu Pro Lys Ile Pro Asn 515 520 525			1584
ccg cag ctc gcg ccg aag ctc gct tag Pro Gln Leu Ala Pro Lys Leu Ala 530 535			1611
 <210> 96 <211> 536 <212> PRT <213> <i>Ostreococcus tauri</i>  <400> 96			
Met Tyr Leu Gly Arg Gly Arg Leu Glu Ser Gly Thr Thr Arg Gly Met 1 5 10 15			
Met Arg Thr His Ala Arg Arg Pro Ser Thr Thr Ser Asn Pro Cys Ala 20 25 30			
Arg Ser Arg Val Arg Lys Thr Thr Glu Arg Ser Leu Ala Arg Val Arg 35 40 45			
Arg Ser Thr Ser Glu Lys Gly Ser Ala Leu Val Leu Glu Arg Glu Ser 50 55 60			
Glu Arg Glu Lys Glu Glu Gly Gly Lys Ala Arg Ala Glu Gly Leu Arg 65 70 75 80			
Phe Gln Arg Pro Asp Val Ala Ala Pro Gly Gly Ala Asp Pro Trp Asn 85 90 95			
Asp Glu Lys Trp Thr Lys Thr Lys Trp Thr Val Phe Arg Asp Val Ala 100 105 110			
Tyr Asp Leu Asp Pro Phe Phe Ala Arg His Pro Gly Gly Asp Trp Leu 115 120 125			
Leu Asn Leu Ala Val Gly Arg Asp Cys Thr Ala Leu Ile Glu Ser Tyr 130 135 140			

His Leu Arg Pro Glu Val Ala Thr Ala Arg Phe Arg Met Leu Pro Lys  
 145 150 155 160

Leu Glu Asp Phe Pro Val Glu Ala Val Pro Lys Ser Pro Arg Pro Asn  
 165 170 175

Asp Ser Pro Leu Tyr Asn Asn Ile Arg Asn Arg Val Arg Glu Glu Leu  
 180 185 190

Phe Pro Glu Glu Gly Lys Asn Met His Arg Gln Gly Gly Asp His Gly  
 195 200 205

Asp Gly Asp Asp Ser Gly Phe Arg Arg Leu Leu Leu Met Pro Cys Thr  
 210 215 220

Tyr Ser Leu Pro Gly Val Pro Phe Arg Leu Pro Pro Arg Val Ser Arg  
 225 230 235 240

Gly Arg Gly Leu Val Ser Arg Phe Arg His Cys Ala Asn His Gly Ala  
 245 250 255

Met Ser Pro Ser Pro Ala Val Asn Gly Val Leu Gly Leu Thr Asn Asp  
 260 265 270

Leu Ile Gly Gly Ser Ser Leu Met Trp Arg Tyr His His Gln Val Ser  
 275 280 285

His His Ile His Cys Asn Asp Asn Ala Met Asp Gln Asp Val Tyr Thr  
 290 295 300

Ala Met Pro Leu Leu Arg Phe Asp Ala Arg Arg Pro Lys Ser Trp Tyr  
 305 310 315 320

His Arg Phe Gln Gln Trp Tyr Met Phe Leu Ala Phe Pro Leu Leu Gln  
 325 330 335

Val Ala Phe Gln Val Gly Asp Ile Ala Ala Leu Phe Thr Arg Asp Thr  
 340 345 350

Glu Gly Ala Lys Leu His Gly Ala Thr Thr Trp Glu Leu Thr Thr Val  
 355 360 365

Val Leu Gly Lys Ile Val His Phe Gly Leu Leu Leu Gly Pro Leu Met  
 370 375 380

Asn His Ala Val Ser Ser Val Leu Leu Gly Ile Val Gly Phe Met Ala  
 385 390 395 400

Cys Gln Gly Ile Val Leu Ala Cys Thr Phe Ala Val Ser His Asn Val  
 405 410 415

Ala Glu Ala Lys Ile Pro Glu Asp Thr Gly Gly Glu Ala Trp Glu Arg  
420 425 430

Asp Trp Gly Val Gln Gln Leu Val Thr Ser Ala Asp Trp Gly Gly Lys  
435 440 445

Ile Gly Asn Phe Phe Thr Gly Gly Leu Asn Leu Gln Val Glu His His  
450 455 460

Leu Phe Pro Ala Ile Cys Phe Val His Tyr Pro Asp Ile Ala Lys Ile  
465 470 475 480

Val Lys Glu Glu Ala Ala Lys Leu Asn Ile Pro Tyr Ala Ser Tyr Arg  
485 490 495

Thr Leu Pro Gly Ile Phe Val Gln Phe Trp Arg Phe Met Lys Asp Met  
500 505 510

Gly Thr Ala Glu Gln Ile Gly Glu Val Pro Leu Pro Lys Ile Pro Asn  
515 520 525

Pro Gln Leu Ala Pro Lys Leu Ala  
530 535

<210> 97  
<211> 1455  
<212> DNA  
<213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(1455)  
<223> Delta-6-Desaturase

<400> 97  
.atg gga aaa gga gga gac gca gcc gca gct acc aag cgt agt gga gca 48  
Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Ala Ala Thr Lys Arg Ser Gly Ala  
1 5 10 15  
ttg aaa ttg gcg gag aag ccg cag aag tac act tgg cag gag gtg aag 96  
Leu Lys Leu Ala Glu Lys Pro Gln Lys Tyr Thr Trp Gln Glu Val Lys  
20 25 30  
aag cac atc acc ccc gac gat gcc tgg gta gtc cac caa aac aaa gtc 144  
Lys His Ile Thr Pro Asp Asp Ala Trp Val Val His Gln Asn Lys Val  
35 40 45  
tac gac gtc tcc aac tgg tac gac cac ccc ggt gga gcc gtg gtg ttc 192  
Tyr Asp Val Ser Asn Trp Tyr Asp His Pro Gly Gly Ala Val Val Phe  
50 55 60  
acc cac gcc gga gac gac atg acg gac atc ttc gcc gcc ttc cac gcc 240  
Thr His Ala Gly Asp Asp Met Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala  
65 70 75 80  
caa ggc tct cag gcc atg atg aag aag ttt tac att gga gat ttg att 288  
Gln Gly Ser Gln Ala Met Met Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Asp Leu Ile

152

85										90					95					
ccg gag agt gtg gag cat aag gat caa aga cag ttg gat ttc gag aag	Pro Glu Ser Val 100	Glu His Lys Asp 105	Gln Arg Gln Leu Asp 110	Phe Glu Lys	336															
gga tat cgt gat tta cgg gcc aag ctt gtc atg atg ggg atg ttc aag	Gly Tyr Arg 115	Leu Arg Ala Lys 120	Leu Val Met Met 125	Gly Met Phe Lys	384															
tcg agt aag atg tat tat gca tac aag tgc tcg ttc aat atg tgc atg	Ser Ser Lys Met Tyr Tyr 130	Ala Tyr Lys 135	Lys Cys Ser Phe 140	Asn Met Cys Met	432															
tggttggtggcgt																				

355	360	365	
gga ttg gga cac aac ggt atg tca gtg tac gat gcc acc acc cga cct Gly Leu Gly His Asn Gly Met Ser Val Tyr Asp Ala Thr Thr Arg Pro 370 375 380			1152
gac ttc tgg caa ctc caa gtc acc act aca cgt aac atc att ggt gga Asp Phe Trp Gln Leu Gln Val Thr Thr Thr Arg Asn Ile Ile Gly Gly 385 390 395 400			1200
cac ggc att ccc caa ttc ttt gtg gat tgg ttc tgc ggt gga ttg caa His Gly Ile Pro Gln Phe Phe Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln 405 410 415			1248
tac caa gtg gat cac cac ctc ttc ccc atg atg cct aga aac aat atc Tyr Gln Val Asp His His Leu Phe Pro Met Met Pro Arg Asn Asn Ile 420 425 430			1296
gcg aaa tgc cac aag ctt gtg gag tca ttc tgt aag gag tgg ggt gtg Ala Lys Cys His Lys Leu Val Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val 435 440 445			1344
aag tac cat gag gcc gat atg tgg gat ggt acc gtg gaa gtg ttg caa Lys Tyr His Glu Ala Asp Met Trp Asp Gly Thr Val Glu Val Leu Gln 450 455 460			1392
cat ctc tcc aag gtg tgc gat gat ttc ctt gtg gag atg gtg aag gat His Leu Ser Lys Val Ser Asp Asp Phe Leu Val Glu Met Val Lys Asp 465 470 475 480			1440
ttc cct gcc atg taa Phe Pro Ala Met			1455

&lt;210&gt; 98

&lt;211&gt; 484

&lt;212&gt; PRT

<213> *Thalassiosira pseudonana*

&lt;400&gt; 98

Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Ala Ala Ala Thr Lys Arg Ser Gly Ala	
1 5 10 15	

Leu Lys Leu Ala Glu Lys Pro Gln Lys Tyr Thr Trp Gln Glu Val Lys	
20 25 30	

Lys His Ile Thr Pro Asp Asp Ala Trp Val Val His Gln Asn Lys Val	
35 40 45	

Tyr Asp Val Ser Asn Trp Tyr Asp His Pro Gly Gly Ala Val Val Phe	
50 55 60	

Thr His Ala Gly Asp Asp Met Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala	
65 70 75 80	

Gln Gly Ser Gln Ala Met Met Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Asp Leu Ile	
85 90 95	

Pro Glu Ser Val Glu His Lys Asp Gln Arg Gln Leu Asp Phe Glu Lys	
100 105 110	



Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ala Lys Leu Val Met Met Gly Met Phe Lys  
 115 120 125

Ser Ser Lys Met Tyr Tyr Ala Tyr Lys Cys Ser Phe Asn Met Cys Met  
 130 135 140

Trp Leu Val Ala Val Ala Met Val Tyr Tyr Ser Asp Ser Leu Ala Met  
 145 150 155 160

His Ile Gly Ser Ala Leu Leu Leu Gly Leu Phe Trp Gln Gln Cys Gly  
 165 170 175

Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His His Gln Val Phe Lys Gln Arg Lys  
 180 185 190

Tyr Gly Asp Leu Val Gly Ile Phe Trp Gly Asp Leu Met Gln Gly Phe  
 195 200 205

Ser Met Gln Trp Trp Lys Asn Lys His Asn Gly His His Ala Val Pro  
 210 215 220

Asn Leu His Asn Ser Ser Leu Asp Ser Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile  
 225 230 235 240

Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp Ser Leu Lys Gln Ala Gln Ser Phe  
 245 250 255

Arg Glu Ile Asn Lys Gly Lys Asp Ser Thr Phe Val Lys Tyr Ala Ile  
 260 265 270

Lys Phe Gln Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Ile  
 275 280 285

Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe Lys Thr Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala  
 290 295 300

Ser Glu Asn Ala Lys Leu Glu Leu Glu Lys Arg Gly Leu Gln Tyr Pro  
 305 310 315 320

Leu Leu Glu Lys Leu Gly Ile Thr Leu His Tyr Thr Trp Met Phe Val  
 325 330 335

Leu Ser Ser Gly Phe Gly Arg Trp Ser Leu Pro Tyr Ser Ile Met Tyr  
 340 345 350

Phe Phe Thr Ala Thr Cys Ser Ser Gly Leu Phe Leu Ala Leu Val Phe  
 355 360 365

Gly Leu Gly His Asn Gly Met Ser Val Tyr Asp Ala Thr Thr Arg Pro  
 370 375 380

Asp Phe Trp Gln Leu Gln Val Thr Thr Thr Arg Asn Ile Ile Gly Gly  
 385 390 395 400  
 His Gly Ile Pro Gln Phe Phe Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln  
 405 410 415  
 Tyr Gln Val Asp His His Leu Phe Pro Met Met Pro Arg Asn Asn Ile  
 420 425 430  
 Ala Lys Cys His Lys Leu Val Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val  
 435 440 445  
 Lys Tyr His Glu Ala Asp Met Trp Asp Gly Thr Val Glu Val Leu Gln  
 450 455 460  
 His Leu Ser Lys Val Ser Asp Asp Phe Leu Val Glu Met Val Lys Asp  
 465 470 475 480  
 Phe Pro Ala Met

<210> 99  
 <211> 1431  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1431)  
 <223> Delta-5-Desaturase

<400> 99  
 atg ccc ccc aac gcc gat atc tcc cgc atc cgc aac cgc atc ccc acc 48  
 Met Pro Pro Asn Ala Asp Ile Ser Arg Ile Arg Asn Arg Ile Pro Thr  
 1 5 10 15  
 aaa aca ggt acc gtt gcc tct gcc gac aac aac gac ccc gcc acc caa 96  
 Lys Thr Gly Thr Val Ala Ser Ala Asp Asn Asn Asp Pro Ala Thr Gln  
 20 25 30  
 tcc gtc cga acc ctc aaa tct ctc aag ggc aac gag gtc gtc atc aac 144  
 Ser Val Arg Thr Leu Lys Ser Leu Lys Gly Asn Glu Val Val Ile Asn  
 35 40 45  
 ggc aca att tat gac att gct gac ttt gtc cat cct gga gga gag gtt 192  
 Gly Thr Ile Tyr Asp Ile Ala Asp Phe Val His Pro Gly Gly Glu Val  
 50 55 60  
 gtc aag ttc ttt ggt ggg aat gat gtt act att cag tat aat atg att 240  
 Val Lys Phe Phe Gly Gly Asn Asp Val Thr Ile Gln Tyr Asn Met Ile  
 65 70 75 80  
 cat ccg tat cat acg ggg aaa cat ctg gag aag atg aag gct gtt gga 288  
 His Pro Tyr His Thr Gly Lys His Leu Glu Lys Met Lys Ala Val Gly  
 85 90 95  
 aag gtt gta gat tgg cag tcg gac tac aag ttc gac acc ccc ttt gaa 336  
 Lys Val Val Asp Trp Gln Ser Asp Tyr Lys Phe Asp Thr Pro Phe Glu

## 156

100	105	110	
cga gag atc aaa tca gaa gtg ttc aag atc gta cgt cgc ggg cgt gag Arg Glu Ile Lys Ser Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Arg Glu 115 120 125			384
ttc ggc aca aca ggc tac ttc ctc cgt gcc ttt ttc tac atc gct ctc Phe Gly Thr Thr Gly Tyr Phe Leu Arg Ala Phe Phe Tyr Ile Ala Leu 130 135 140			432
ttc ttc acc atg caa tac act ttc gcc aca tgc acc acc ttc acc acc Phe Phe Thr Met Gln Tyr Thr Phe Ala Thr Cys Thr Thr Phe Thr Thr 145 150 155 160			480
tac gat cac tgg tat cag agt ggt gta ttc atc gca att gtg ttt ggt Tyr Asp His Trp Tyr Gln Ser Gly Val Phe Ile Ala Ile Val Phe Gly 165 170 175			528
att tca cag gca ttc att ggg ttg aat gtc cag cac gat gcc aat cac Ile Ser Gln Ala Phe Ile Gly Leu Asn Val Gln His Asp Ala Asn His 180 185 190			576
gga gct gcc agt aag cgt ccc tgg gtg aat gac ttg ttg gga ttt gga Gly Ala Ala Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Leu Leu Gly Phe Gly 195 200 205			624
acg gat ttg att gga tct aac aaa tgg aat tgg atg gca cag cat tgg Thr Asp Leu Ile Gly Ser Asn Lys Trp Asn Trp Met Ala Gln His Trp 210 215 220			672
act cat cac gct tac act aac cat agt gag aag gat ccc gat agc ttc Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ser Gly Lys Asp Pro Asp Ser Phe 225 230 235 240			720
agc tcg gaa cct atg ttt gca ttc aat gac tat ccc att gga cac ccg Ser Ser Glu Pro Met Phe Ala Phe Asn Asp Tyr Pro Ile Gly His Pro 245 250 255			768
aag aga aag tgg tgg cat agy ttc cag gga ggg tac ttc ctc ttc atg Lys Arg Lys Trp Trp His Arg Phe Gln Gly Gly Tyr Phe Leu Phe Met 260 265 270			816
ctt gga ctt tac tgg ctc tcg act gta ttc aat ccg caa ttc att gat Leu Gly Leu Tyr Trp Leu Ser Thr Val Phe Asn Pro Gln Phe Ile Asp 275 280 285			864
ctt cgt caa cgt ggg gct cag tac gtc gga att caa atg gag aat gat Leu Arg Gln Arg Gly Ala Gln Tyr Val Gly Ile Gln Met Glu Asn Asp 290 295 300			912
ttc att gtc aag agg agg aag tac gcc gtt gca ttg agg atg atg tac Phe Ile Val Lys Arg Arg Lys Tyr Ala Val Ala Leu Arg Met Met Tyr 305 310 315 320			960
att tac ttg aac att gtc agc ccc ttc atg aac aat ggt ttg agc tgg Ile Tyr Leu Asn Ile Val Ser Pro Phe Met Asn Asn Gly Leu Ser Trp 325 330 335			1008
tct acc ttt gga atc atc atg ttg atg gga atc agc gag agt ctc act Ser Thr Phe Gly Ile Ile Met Leu Met Gly Ile Ser Glu Ser Leu Thr 340 345 350			1056
ctc agt gtg ctc ttc tcg ttg tct cac aac ttc atc aat tcg gat cgt Leu Ser Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe Ile Asn Ser Asp Arg 355 360 365			1104
gat cct acg gct gac ttc aaa aag acc gga gaa caa gtg tgc tgg ttc Asp Pro Thr Ala Asp Phe Lys Lys Thr Gly Glu Gln Val Cys Trp Phe			1152

WO 2005/012316

157

370 375 380

aag tcg cag gtg gag act tcg tct acc tat ggg ggt ttt att tcc gga 1200  
 Lys Ser Gln Val Glu Thr Ser Ser Thr Tyr Gly Gly Phe Ile Ser Gly 400  
 385 390 395

tgt ctt acg gga gga ctc aac ttt cag gtg gaa cat cat ctc ttt ccc 1248  
 Cys Leu Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu His His Leu Phe Pro 415  
 405 410

cgt atg agc agt gct tgg tat cct tac att gca cct acg gtt cgt gag 1296  
 Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala Pro Thr Val Arg Glu 430  
 420 425

gtt tgc aag aag cac ggg gtg aac tac gct tat tat cct tgg att ggg 1344  
 Val Cys Lys Lys His Gly Val Asn Tyr Ala Tyr Tyr Pro Trp Ile Gly 445  
 435 440

cag aat ttg gta tca aca ttc aaa tac atg cat cgc gct ggt agt gga 1392  
 Gln Asn Leu Val Ser Thr Phe Lys Tyr Met His Arg Ala Gly Ser Gly 460  
 450 455

gcc aac tgg gag ctc aag ccg ttg tct gga agt gcc taa 1431  
 Ala Asn Trp Glu Leu Lys Pro Leu Ser Gly Ser Ala 475  
 465 470

<210> 100  
 <211> 476  
 <212> PRT  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<400> 100

Met Pro Pro Asn Ala Asp Ile Ser Arg Ile Arg Asn Arg Ile Pro Thr 15  
 1 5 10

Lys Thr Gly Thr Val Ala Ser Ala Asp Asn Asn Asp Pro Ala Thr Gln 30  
 20 25

Ser Val Arg Thr Leu Lys Ser Leu Lys Gly Asn Glu Val Val Ile Asn 45  
 35 40

Gly Thr Ile Tyr Asp Ile Ala Asp Phe Val His Pro Gly Gly Glu Val 60  
 50 55

Val Lys Phe Phe Gly Gly Asn Asp Val Thr Ile Gln Tyr Asn Met Ile 80  
 65 70 75

His Pro Tyr His Thr Gly Lys His Leu Glu Lys Met Lys Ala Val Gly 95  
 85 90

Lys Val Val Asp Trp Gln Ser Asp Tyr Lys Phe Asp Thr Pro Phe Glu 110  
 100 105

Arg Glu Ile Lys Ser Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Arg Glu 125  
 115 120

Phe Gly Thr Thr Gly Tyr Phe Leu Arg Ala Phe Phe Tyr Ile Ala Leu 140  
 130 135

Phe Phe Thr Met Gln Tyr Thr Phe Ala Thr Cys Thr Thr Phe Thr Thr  
145 150 155 160

Tyr Asp His Trp Tyr Gln Ser Gly Val Phe Ile Ala Ile Val Phe Gly  
165 170 175

Ile Ser Gln Ala Phe Ile Gly Leu Asn Val Gln His Asp Ala Asn His  
180 185 190

Gly Ala Ala Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Leu Leu Gly Phe Gly  
195 200 205

Thr Asp Leu Ile Gly Ser Asn Lys Trp Asn Trp Met Ala Gln His Trp  
210 215 220

Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ser Glu Lys Asp Pro Asp Ser Phe  
225 230 235 240

Ser Ser Glu Pro Met Phe Ala Phe Asn Asp Tyr Pro Ile Gly His Pro  
245 250 255

Lys Arg Lys Trp Trp His Arg Phe Gln Gly Gly Tyr Phe Leu Phe Met  
260 265 270

Leu Gly Leu Tyr Trp Leu Ser Thr Val Phe Asn Pro Gln Phe Ile Asp  
275 280 285

Leu Arg Gln Arg Gly Ala Gln Tyr Val Gly Ile Gln Met Glu Asn Asp  
290 295 300

Phe Ile Val Lys Arg Arg Lys Tyr Ala Val Ala Leu Arg Met Met Tyr  
305 310 315 320

Ile Tyr Leu Asn Ile Val Ser Pro Phe Met Asn Asn Gly Leu Ser Trp  
325 330 335

Ser Thr Phe Gly Ile Ile Met Leu Met Gly Ile Ser Glu Ser Leu Thr  
340 345 350

Leu Ser Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe Ile Asn Ser Asp Arg  
355 360 365

Asp Pro Thr Ala Asp Phe Lys Lys Thr Gly Glu Gln Val Cys Trp Phe  
370 375 380

Lys Ser Gln Val Glu Thr Ser Ser Thr Tyr Gly Gly Phe Ile Ser Gly  
385 390 395 400

Cys Leu Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu His His Leu Phe Pro  
405 410 415

Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala Pro Thr Val Arg Glu  
420 425 430

Val Cys Lys Lys His Gly Val Asn Tyr Ala Tyr Tyr Pro Trp Ile Gly  
435 440 445

Gln Asn Leu Val Ser Thr Phe Lys Tyr Met His Arg Ala Gly Ser Gly  
450 455 460

Ala Asn Trp Glu Leu Lys Pro Leu Ser Gly Ser Ala  
465 470 475

<210> 101

<211> 1449

<212> DNA

<213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1449)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 101

atg cca ccc aac gcc gag gtc aaa aac ctc cgt tca cgt tcc atc cca 48  
Met Pro Pro Asn Ala Glu Val Lys Asn Leu Arg Ser Arg Ser Ile Pro  
1 5 10 15

acg aag aag tcc agt tca tcg tca tcc acc gcg aac gac gat ccg gct 96  
Thr Lys Lys Ser Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ala Asn Asp Asp Pro Ala  
20 25 30

acc caa tcc acc tca cct gtg aac cga acc ctc aag tct ttg aat gga 144  
Thr Gln Ser Thr Ser Pro Val Asn Arg Thr Leu Lys Ser Leu Asn Gly  
35 40 45

aac gaa ata gct att gac ggt gtc atc tat gat att gat ggc ttt gtc 192  
Asn Glu Ile Ala Ile Asp Gly Val Ile Tyr Asp Ile Asp Gly Phe Val  
50 55 60

cat cct gga gga gag gtt att agc ttc ttt gga ggc aac gat gtg act 240  
His Pro Gly Gly Glu Val Ile Ser Phe Phe Gly Gly Asn Asp Val Thr  
65 70 75 80

gta cag tac aaa atg att cat ccg tat cat aat agt aag cat ctc gag 288  
Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His Asn Ser Lys His Leu Glu  
85 90 95

aag atg aga gcc gtt gga aag att gca gac tac tcc aca gag tac aag 336  
Lys Met Arg Ala Val Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Ser Thr Glu Tyr Lys  
100 105 110

ttc gac aca ccc ttt gaa cga gag atc aaa tcc gaa gtg ttc aaa atc 384  
Phe Asp Thr Pro Phe Glu Arg Glu Ile Lys Ser Glu Val Phe Lys Ile  
115 120 125

gtc cgt cga gga cgt gaa ttc ggt aca aca gga tat ttc ctc cgt gcc 432  
Val Arg Arg Gly Arg Glu Phe Gly Thr Thr Gly Tyr Phe Leu Arg Ala  
130 135 140

ttc ttc tac att gct ctc ttc ttc acc atg caa tac acc ttc gcc aca 480  
Phe Phe Tyr Ile Ala Leu Phe Phe Thr Met Gln Tyr Thr Phe Ala Thr

160

145	150	155	160	
tgc act acc ttc acc acc tac gat cat tgg tat caa agt ggt gta ttc Cys Thr Thr Phe Thr Thr Tyr Asp His Trp Tyr Gln Ser Gly Val Phe 165 170 175				528
atc gcc att gtg ttt ggt atc tca caa gct ttc att ggg ttg aat gta Ile Ala Ile Val Phe Gly Ile Ser Gln Ala Phe Ile Gly Leu Asn Val 180 185 190				576
caa cat gat gcc aat cac gga gct gct agc aaa cga cct tgg gtg aat Gln His Asp Ala Asn His Gly Ala Ala Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn 195 200 205				624
gat ctc ctt gga tct gga gct gat ctc atc ggt gga tgc aaa tgg aac Asp Leu Leu Gly Ser Gly Ala Asp Leu Ile Gly Gly Cys Lys Trp Asn 210 215 220				672
tgg ttg gct cag cat tgg act cat cat gcg tat acc aat cac gct gat Trp Leu Ala Gln His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Asp 225 230 235 240				720
aaa gat cct gat agc ttt agt tcc gag ccg gtc ttc aac ttt aac gat Lys Asp Pro Asp Ser Phe Ser Ser Glu Pro Val Phe Asn Phe Asn Asp 245 250 255				768
tat ccc att ggt cac ccc aaa aga aag tgg tgg cat agg ttc caa ggg Tyr Pro Ile Gly His Pro Lys Arg Lys Trp Trp His Arg Phe Gln Gly 260 265 270				816
ctc tac ttc cta atc atg ctg agt ttc tat tgg gta tcg atg gta ttc Leu Tyr Phe Leu Ile Met Leu Ser Phe Tyr Trp Val Ser Met Val Phe 275 280 285				864
aac cca caa gtt atc gac ctc cgt cat gct gga gct gcc tac gtt gga Asn Pro Gln Val Ile Asp Leu Arg His Ala Gly Ala Ala Tyr Val Gly 290 295 300				912
ttt cag atg gag aac gac ttt atc gtc aaa ccg aga aag tat gca atg Phe Gln Met Glu Asn Asp Phe Ile Val Lys Arg Arg Lys Tyr Ala Met 305 310 315 320				960
gca ctt cgt gca atg tac ttc tat ttc aac atc tat tgt ccg att gtc Ala Leu Arg Ala Met Tyr Phe Tyr Phe Asn Ile Tyr Cys Pro Ile Val 325 330 335				1008
aac aat gga ttg act tgg tcg aca gtt gga atc atc ctc tta atg gga Asn Asn Gly Leu Thr Trp Ser Thr Val Gly Ile Ile Leu Leu Met Gly 340 345 350				1056
gtt agc gaa agc ttc atg ctc tcc ggt cta ttc gta ctc tca cac aac Val Ser Glu Ser Phe Met Leu Ser Gly Leu Phe Val Leu Ser His Asn 355 360 365				1104
ttt gaa aat tcc gaa cgt gat cct acc tct gag tat cgc aag act ggt Phe Glu Asn Ser Glu Arg Asp Pro Thr Ser Glu Tyr Arg Lys Thr Gly 370 375 380				1152
gag caa gta tgt tgg ttc aag tct caa gtg gag act tct tct acc tac Glu Gln Val Cys Trp Phe Lys Ser Gln Val Glu Thr Ser Ser Thr Tyr 385 390 395 400				1200
gga ggt atc gtt gct ggg tgt ctc act ggt gga ctc aac ttt caa gtg Gly Gly Ile Val Ala Gly Cys Leu Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val 405 410 415				1248
gag cat cat ttg ttc ccg agg atg agc agt gct tgg tat cct ttc atc Glu His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Phe Ile				1296

161

420	425	430	
gcg ccg aag gtt aga gag att tgt aag aag cat gga gtt aga tac gct			1344
Ala Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Lys Lys His Gly Val Arg Tyr Ala			
435	440	445	
tac tat ccg tac atc tgg cag aac ttg cat tct acc gtg agt tac atg			1392
Tyr Tyr Pro Tyr Ile Trp Gln Asn Leu His Ser Thr Val Ser Tyr Met			
450	455	460	
cat ggg acg gga acg gga gct aga tgg gag ctt cag ccg ttg tct gga			1440
His Gly Thr Gly Thr Gly Ala Arg Trp Glu Leu Gln Pro Leu Ser Gly			
465	470	475	480
agg gcg tag			1449
Arg Ala			

<210> 102  
 <211> 482  
 <212> PRT  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<400> 102

Met Pro Pro Asn Ala Glu Val Lys Asn Leu Arg Ser Arg Ser Ile Pro			
1	5	10	15
Thr Lys Lys Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ala Asn Asp Asp Pro Ala			
	20	25	30
Thr Gln Ser Thr Ser Pro Val Asn Arg Thr Leu Lys Ser Leu Asn Gly			
	35	40	45
Asn Glu Ile Ala Ile Asp Gly Val Ile Tyr Asp Ile Asp Gly Phe Val			
	50	55	60
His Pro Gly Gly Glu Val Ile Ser Phe Phe Gly Gly Asn Asp Val Thr			
	65	70	75
Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His Asn Ser Lys His Leu Glu			
	85	90	95
Lys Met Arg Ala Val Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Ser Thr Glu Tyr Lys			
	100	105	110
Phe Asp Thr Pro Phe Glu Arg Glu Ile Lys Ser Glu Val Phe Lys Ile			
	115	120	125
Val Arg Arg Gly Arg Glu Phe Gly Thr Thr Gly Tyr Phe Leu Arg Ala			
	130	135	140
Phe Phe Tyr Ile Ala Leu Phe Phe Thr Met Gln Tyr Thr Phe Ala Thr			
	145	150	155
Cys Thr Thr Phe Thr Thr Tyr Asp His Trp Tyr Gln Ser Gly Val Phe			
	165	170	175



Ile Ala Ile Val Phe Gly Ile Ser Gln Ala Phe Ile Gly Leu Asn Val  
 180 185 190

Gln His Asp Ala Asn His Gly Ala Ala Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn  
 195 200 205

Asp Leu Leu Gly Ser Gly Ala Asp Leu Ile Gly Gly Cys Lys Trp Asn  
 210 215 220

Trp Leu Ala Gln His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Asp  
 225 230 235 240

Lys Asp Pro Asp Ser Phe Ser Ser Glu Pro Val Phe Asn Phe Asn Asp  
 245 250 255

Tyr Pro Ile Gly His Pro Lys Arg Lys Trp Trp His Arg Phe Gln Gly  
 260 265 270

Leu Tyr Phe Leu Ile Met Leu Ser Phe Tyr Trp Val Ser Met Val Phe  
 275 280 285

Asn Pro Gln Val Ile Asp Leu Arg His Ala Gly Ala Ala Tyr Val Gly  
 290 295 300

Phe Gln Met Glu Asn Asp Phe Ile Val Lys Arg Arg Lys Tyr Ala Met  
 305 310 315 320

Ala Leu Arg Ala Met Tyr Phe Tyr Phe Asn Ile Tyr Cys Pro Ile Val  
 325 330 335

Asn Asn Gly Leu Thr Trp Ser Thr Val Gly Ile Ile Leu Leu Met Gly  
 340 345 350

Val Ser Glu Ser Phe Met Leu Ser Gly Leu Phe Val Leu Ser His Asn  
 355 360 365

Phe Glu Asn Ser Glu Arg Asp Pro Thr Ser Glu Tyr Arg Lys Thr Gly  
 370 375 380

Glu Gln Val Cys Trp Phe Lys Ser Gln Val Glu Thr Ser Ser Thr Tyr  
 385 390 395 400

Gly Gly Ile Val Ala Gly Cys Leu Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val  
 405 410 415

Glu His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Phe Ile  
 420 425 430

Ala Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Lys Lys His Gly Val Arg Tyr Ala  
 435 440 445

Tyr Tyr Pro Tyr Ile Trp Gln Asn Leu His Ser Thr Val Ser Tyr Met  
 450 455 460

His Gly Thr Gly Thr Gly Ala Arg Trp Glu Leu Gln Pro Leu Ser Gly  
 465 470 475 480

Arg Ala

<210> 103  
 <211> 1512  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1512)  
 <223> Delta-4-Desaturase

<400> 103  
 atg tgc aac ggc aac ctc cca gca tcc acc gca cag ctc aag tcc acc 48  
 Met Cys Asn Gly Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Gln Leu Lys Ser Thr  
 1 5 10 15  
 tcg aag ccc cag cag caa cat gag cat cgc acc atc tcc aag tcc gag 96  
 Ser Lys Pro Gln Gln Gln His Glu His Arg Thr Ile Ser Lys Ser Glu  
 20 25 30  
 ctc gcc caa cac aac acg ccc aaa tca gca tgg tgt gcc gtc cac tcc 144  
 Leu Ala Gln His Asn Thr Pro Lys Ser Ala Trp Cys Ala Val His Ser  
 35 40 45  
 act ccc gcc acc gac cca tcc cac tcc aac aac aaa caa cac gca cac 192  
 Thr Pro Ala Thr Asp Pro Ser His Ser Asn Asn Lys Gln His Ala His  
 50 55 60  
 cta gtc ctc gac att acc gac ttt gcg tcc cgc cat cca ggg gga gac 240  
 Leu Val Leu Asp Ile Thr Asp Phe Ala Ser Arg His Pro Gly Gly Asp  
 65 70 75 80  
 ctc atc ctc ctc gct tcc ggc aaa gac gcc tcg gtg ctg ttt gaa aca 288  
 Leu Ile Leu Leu Ala Ser Gly Lys Asp Ala Ser Val Leu Phe Glu Thr  
 85 90 95  
 tac cat cca cgt gga gtt ccg acg tct ctc att caa aag ctg cag att 336  
 Tyr His Pro Arg Gly Val Pro Thr Ser Leu Ile Gln Lys Leu Gln Ile  
 100 105 110  
 gga gtg atg gag gag gag gcg ttt cgg gat tcg ttt tac agt tgg act 384  
 Gly Val Met Glu Glu Glu Ala Phe Arg Asp Ser Phe Tyr Ser Trp Thr  
 115 120 125  
 gat tct gac ttt tat act gtg ttg aag agg agg gtt gtg gag cgg ttg 432  
 Asp Ser Asp Phe Tyr Thr Val Leu Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Leu  
 130 135 140  
 gag gag agg ggg ttg gac agg agg gga tcg aaa gag att tgg atc aag 480  
 Glu Glu Arg Gly Leu Asp Arg Arg Gly Ser Lys Glu Ile Trp Ile Lys  
 145 150 155 160  
 gct ttg ttc ttg ttg gtt gga ttt tgg tac tgt ttg tac aag atg tat 528  
 Ala Leu Phe Leu Leu Val Gly Phe Trp Tyr Cys Leu Tyr Lys Met Tyr

164

	165	170	175	
act acg tcg gat atc gat cag tac ggt att gcc att gcc tat tct att				576
Thr Thr Ser Asp Ile Asp Gln Tyr Gly Ile Ala Ile Ala Tyr Ser Ile				
	180	185	190	
gga atg gga acc ttt gcg gca ttc atc ggc acg tgt att caa cac gat				624
Gly Met Gly Thr Phe Ala Ala Phe Ile Gly Thr Cys Ile Gln His Asp				
	195	200	205	
gga aat cac ggt gca ttc gct cag aac aag tta ctc aac aag ttg gct				672
Gly Asn His Gly Ala Phe Ala Gln Asn Lys Leu Leu Asn Lys Leu Ala				
	210	215	220	
ggg tgg acg ttg gat atg att ggt gcg agt gcg ttt acg tgg gag ctt				720
Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Phe Thr Trp Glu Leu				
	225	230	235	240
cag cac atg ctg ggg cat cat cca tat acg aat gtg ttg gat ggg gtg				768
Gln His Met Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Val Leu Asp Gly Val				
	245	250	255	
gag gag gag agg aag gag agg ggg gag gat gtt gct ttg gaa gaa aag				816
Glu Glu Glu Arg Lys Glu Arg Gly Glu Asp Val Ala Leu Glu Glu Lys				
	260	265	270	
gat cag gat ttt gaa gtt gcc aca tcc gga cga tta tat cat att gat				864
Asp Gln Asp Phe Glu Val Ala Thr Ser Gly Arg Leu Tyr His Ile Asp				
	275	280	285	
gcc aat gta cgt tat ggt tcg gta tgg aat gtc atg agg ttt tgg gct				912
Ala Asn Val Arg Tyr Gly Ser Val Trp Asn Val Met Arg Phe Trp Ala				
	290	295	300	
atg aag gtc att acg atg gga tat atg atg gga tta cca atc tac ttt				960
Met Lys Val Ile Thr Met Gly Tyr Met Met Gly Leu Pro Ile Tyr Phe				
	305	310	315	320
cat gga gta ctg agg gga gtt gga ttg ttt gtt att ggg cat ttg gcg				1008
His Gly Val Leu Arg Gly Val Gly Leu Phe Val Ile Gly His Leu Ala				
	325	330	335	
tgt gga gag ttg ttg gcg acg atg ttt att gtg aat cac gtc att gag				1056
Cys Gly Glu Leu Leu Ala Thr Met Phe Ile Val Asn His Val Ile Glu				
	340	345	350	
ggt gtg agt tat gga acg aag gat ttg gtt ggt ggt gcg agt cat gta				1104
Gly Val Ser Tyr Gly Thr Lys Asp Leu Val Gly Gly Ala Ser His Val				
	355	360	365	
gat gag aag aag att gtc aag cca acg act gta ttg gga gat aca cca				1152
Asp Glu Lys Lys Ile Val Lys Pro Thr Thr Val Leu Gly Asp Thr Pro				
	370	375	380	
atg gta aag act cgc gag gag gca ttg aaa agc aac agc aat aac aac				1200
Met Val Lys Thr Arg Glu Glu Ala Leu Lys Ser Asn Ser Asn Asn Asn				
	385	390	395	400
aag aag aag gga gag aag aac tcg gta cca tcc gtt cca ttc aac gac				1248
Lys Lys Lys Gly Glu Lys Asn Ser Val Pro Ser Val Pro Phe Asn Asp				
	405	410	415	
tgg gca gca gtc caa tgc cag acc tcc gtg aat tgg tct cca ggc tca				1296
Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr Ser Val Asn Trp Ser Pro Gly Ser				
	420	425	430	
tgg ttc tgg aat cac ttt tct ggg gga ctc tct cat cag att gag cat				1344
Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly Gly Leu Ser His Gln Ile Glu His				

## 165

435                      440                      445  
 cac ttg ttc ccc agc att tgt cat aca aac tac tgt cat atc cag gat      1392  
 His Leu Phe Pro Ser Ile Cys His Thr Asn Tyr Cys His Ile Gln Asp  
 450                      455                      460  
 gtt gtg gag agt acg tgt gct gag tac gga gtt ccg tat cag agt gag      1440  
 Val Val Glu Ser Thr Cys Ala Glu Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ser Glu  
 465                      470                      475                      480  
 agt aat ttg ttt gtt gct tat gga aag atg att agt cat ttg aag ttt      1488  
 Ser Asn Leu Phe Val Ala Tyr Gly Lys Met Ile Ser His Leu Lys Phe  
 485                      490                      495  
 ttg ggt aaa gcc aag tgt gag tag      1512  
 Leu Gly Lys Ala Lys Cys Glu  
 500  
 <210> 104  
 <211> 503  
 <212> PRT  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*  
 <400> 104  
 Met Cys Asn Gly Asn Leu Pro Ala Ser Thr Ala Gln Leu Lys Ser Thr  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Lys Pro Gln Gln Gln His Glu His Arg Thr Ile Ser Lys Ser Glu  
 20                      25                      30  
 Leu Ala Gln His Asn Thr Pro Lys Ser Ala Trp Cys Ala Val His Ser  
 35                      40                      45  
 Thr Pro Ala Thr Asp Pro Ser His Ser Asn Asn Lys Gln His Ala His  
 50                      55                      60  
 Leu Val Leu Asp Ile Thr Asp Phe Ala Ser Arg His Pro Gly Gly Asp  
 65                      70                      75                      80  
 Leu Ile Leu Leu Ala Ser Gly Lys Asp Ala Ser Val Leu Phe Glu Thr  
 85                      90                      95  
 Tyr His Pro Arg Gly Val Pro Thr Ser Leu Ile Gln Lys Leu Gln Ile  
 100                      105                      110  
 Gly Val Met Glu Glu Glu Ala Phe Arg Asp Ser Phe Tyr Ser Trp Thr  
 115                      120                      125  
 Asp Ser Asp Phe Tyr Thr Val Leu Lys Arg Arg Val Val Glu Arg Leu  
 130                      135                      140  
 Glu Glu Arg Gly Leu Asp Arg Arg Gly Ser Lys Glu Ile Trp Ile Lys  
 145                      150                      155                      160  
 Ala Leu Phe Leu Leu Val Gly Phe Trp Tyr Cys Leu Tyr Lys Met Tyr  
 165                      170                      175

Thr Thr Ser Asp Ile Asp Gln Tyr Gly Ile Ala Ile Ala Tyr Ser Ile  
 180 185 190

Gly Met Gly Thr Phe Ala Ala Phe Ile Gly Thr Cys Ile Gln His Asp  
 195 200 205

Gly Asn His Gly Ala Phe Ala Gln Asn Lys Leu Leu Asn Lys Leu Ala  
 210 215 220

Gly Trp Thr Leu Asp Met Ile Gly Ala Ser Ala Phe Thr Trp Glu Leu  
 225 230 235 240

Gln His Met Leu Gly His His Pro Tyr Thr Asn Val Leu Asp Gly Val  
 245 250 255

Glu Glu Glu Arg Lys Glu Arg Gly Glu Asp Val Ala Leu Glu Glu Lys  
 260 265 270

Asp Gln Asp Phe Glu Val Ala Thr Ser Gly Arg Leu Tyr His Ile Asp  
 275 280 285

Ala Asn Val Arg Tyr Gly Ser Val Trp Asn Val Met Arg Phe Trp Ala  
 290 295 300

Met Lys Val Ile Thr Met Gly Tyr Met Met Gly Leu Pro Ile Tyr Phe  
 305 310 315 320

His Gly Val Leu Arg Gly Val Gly Leu Phe Val Ile Gly His Leu Ala  
 325 330 335

Cys Gly Glu Leu Leu Ala Thr Met Phe Ile Val Asn His Val Ile Glu  
 340 345 350

Gly Val Ser Tyr Gly Thr Lys Asp Leu Val Gly Gly Ala Ser His Val  
 355 360 365

Asp Glu Lys Lys Ile Val Lys Pro Thr Thr Val Leu Gly Asp Thr Pro  
 370 375 380

Met Val Lys Thr Arg Glu Glu Ala Leu Lys Ser Asn Ser Asn Asn Asn  
 385 390 395 400

Lys Lys Lys Gly Glu Lys Asn Ser Val Pro Ser Val Pro Phe Asn Asp  
 405 410 415

Trp Ala Ala Val Gln Cys Gln Thr Ser Val Asn Trp Ser Pro Gly Ser  
 420 425 430

Trp Phe Trp Asn His Phe Ser Gly Gly Leu Ser His Gln Ile Glu His  
 435 440 445

His Leu Phe Pro Ser Ile Cys His Thr Asn Tyr Cys His Ile Gln Asp  
 450 455 460

Val Val Glu Ser Thr Cys Ala Glu Tyr Gly Val Pro Tyr Gln Ser Glu  
 465 470 475 480

Ser Asn Leu Phe Val Ala Tyr Gly Lys Met Ile Ser His Leu Lys Phe  
 485 490 495

Leu Gly Lys Ala Lys Cys Glu  
 500

<210> 105  
 <211> 1257  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1) .. (1257)  
 <223> Omega-3-Desaturase

<400> 105  
 atg tac aga tta aca tcc acc ttc ctc atc gca ttg gca ttc tcc tcc 48  
 Met Tyr Arg Leu Thr Ser Thr Phe Leu Ile Ala Leu Ala Phe Ser Ser  
 1 5 10 15  
 tcc atc aat gcc ttc tct cca caa cgg cca cca cgt act atc acc aaa 96  
 Ser Ile Asn Ala Phe Ser Pro Gln Arg Pro Pro Arg Thr Ile Thr Lys  
 20 25 30  
 agt aaa gtc caa agc acc gtg cta ccc ata ccg acc aag gat gat ctg 144  
 Ser Lys Val Gln Ser Thr Val Leu Pro Ile Pro Thr Lys Asp Asp Leu  
 35 40 45  
 aac ttt ctc caa cca caa ctc gat gag aat gat ctc tac ctc gac gat 192  
 Asn Phe Leu Gln Pro Gln Leu Asp Glu Asn Asp Leu Tyr Leu Asp Asp  
 50 55 60  
 gtc aac act cca cca aga gca ggt acc atc atg aag atg ttg ccg aag 240  
 Val Asn Thr Pro Pro Arg Ala Gly Thr Ile Met Lys Met Leu Pro Lys  
 65 70 75 80  
 gaa acg ttc aac att gat aca gca act tca ttg ggt tac ttt ggt atg 288  
 Glu Thr Phe Asn Ile Asp Thr Ala Thr Ser Leu Gly Tyr Phe Gly Met  
 85 90 95  
 gat atg gca gcg gtt gta tcg tcc atg acg ttg cta aat gct att gta 336  
 Asp Met Ala Ala Val Val Ser Ser Met Thr Leu Leu Asn Ala Ile Val  
 100 105 110  
 act tcg gat cag tac cat gct ctt cca ctt cct ctc caa gca gca aca 384  
 Thr Ser Asp Gln Tyr His Ala Leu Pro Leu Pro Leu Gln Ala Ala Thr  
 115 120 125  
 gtg att ccc ttt cag cta ttg gct ggg ttc gcc atg tgg tgt atg tgg 432  
 Val Ile Pro Phe Gln Leu Leu Ala Gly Phe Ala Met Trp Cys Met Trp  
 130 135 140  
 tgc att gga cac gat gct gga cat tct act gtt tcg aag aca aag tgg 480  
 Cys Ile Gly His Asp Ala Gly His Ser Thr Val Ser Lys Thr Lys Trp

168

145	150	155	160	
atc aac cga gtc gtt ggt gaa gtg gct cat tct gtt gtt tgt ctc acg Ile Asn Arg Val Val Gly Glu Val Ala His Ser Val Val Cys Leu Thr 165 170 175				528
ccg ttc gtg cct tgg cag atg tcg cat agg aaa cac cat ttg aat cac Pro Phe Val Pro Trp Gln Met Ser His Arg Lys His His Leu Asn His 180 185 190				576
aat cat att gaa aag gac tac tct cat aag tgg tac agt cgc gac gag Asn His Ile Glu Lys Asp Tyr Ser His Lys Trp Tyr Ser Arg Asp Glu 195 200 205				624
ttt gat gat atc cca caa ctc tat aag aca ttt ggc tac aac cca aga Phe Asp Asp Ile Pro Gln Leu Tyr Lys Thr Phe Gly Tyr Asn Pro Arg 210 215 220				672
atg atg caa ctt cca ttc ctc tac ttc atg tat ctt gca ttg gga att Met Met Gln Leu Pro Phe Leu Tyr Phe Met Tyr Leu Ala Leu Gly Ile 225 230 235 240				720
cca gat ggt ggg cat gtt gtg ttc tac gga aga atg tgg gaa gga gtg Pro Asp Gly Gly His Val Val Phe Tyr Gly Arg Met Trp Glu Gly Val 245 250 255				768
tca ttg cag aag aag ttt gat gct gct att tct gtg gcc gta tca tgt Ser Leu Gln Lys Lys Phe Asp Ala Ala Ile Ser Val Ala Val Ser Cys 260 265 270				816
gca act gct gga tcg ctt tgg atg aat atg ggt aca gca gac ttc acg Ala Thr Ala Gly Ser Leu Trp Met Asn Met Gly Thr Ala Asp Phe Thr 275 280 285				864
gtg gta tgc atg gtt cct tgg cta gtt cta tcg tgg tgg ctc ttc atg Val Val Cys Met Val Pro Trp Leu Val Leu Ser Trp Trp Leu Phe Met 290 295 300				912
gta aca tac ctt cag cat cat tca gaa gac gga aag cta tac act gat Val Thr Tyr Leu Gln His His Ser Glu Asp Gly Lys Leu Tyr Thr Asp 305 310 315 320				960
gaa acg ttt aca ttt gaa aag gga gcc ttc gag acc gtg gat cgt tcg Glu Thr Phe Thr Phe Glu Lys Gly Ala Phe Glu Thr Val Asp Arg Ser 325 330 335				1008
tac ggc aag ttg atc aac cga atg tcg cat cac atg atg gac ggt cac Tyr Gly Lys Leu Ile Asn Arg Met Ser His His Met Met Asp Gly His 340 345 350				1056
gtg gtg cac cac ttg ttc ttt gaa cgt gta cct cac tac aga tta gag Val Val His His Leu Phe Phe Glu Arg Val Pro His Tyr Arg Leu Glu 355 360 365				1104
gca gct acc gaa gct ctt gtg aaa gga atg gat gaa acg gga cag aaa Ala Ala Thr Glu Ala Leu Val Lys Gly Met Asp Glu Thr Gly Gln Lys 370 375 380				1152
cat ttg tac aaa tac att gat act cct gat ttc aat gcc gag att gtc His Leu Tyr Lys Tyr Ile Asp Thr Pro Asp Phe Asn Ala Glu Ile Val 385 390 395 400				1200
aac gga ttt cgc gac aat tgg ttc ctt gtt gaa gag gag aac atc aaa Asn Gly Phe Arg Asp Asn Trp Phe Leu Val Glu Glu Glu Asn Ile Lys 405 410 415				1248
agg gag tag Arg Glu				1257

<210> 106  
 <211> 418  
 <212> PRT  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<400> 106

Met Tyr Arg Leu Thr Ser Thr Phe Leu Ile Ala Leu Ala Phe Ser Ser  
 1 5 10 15

Ser Ile Asn Ala Phe Ser Pro Gln Arg Pro Pro Arg Thr Ile Thr Lys  
 20 25 30

Ser Lys Val Gln Ser Thr Val Leu Pro Ile Pro Thr Lys Asp Asp Leu  
 35 40 45

Asn Phe Leu Gln Pro Gln Leu Asp Glu Asn Asp Leu Tyr Leu Asp Asp  
 50 55 60

Val Asn Thr Pro Pro Arg Ala Gly Thr Ile Met Lys Met Leu Pro Lys  
 65 70 75 80

Glu Thr Phe Asn Ile Asp Thr Ala Thr Ser Leu Gly Tyr Phe Gly Met  
 85 90 95

Asp Met Ala Ala Val Val Ser Ser Met Thr Leu Leu Asn Ala Ile Val  
 100 105 110

Thr Ser Asp Gln Tyr His Ala Leu Pro Leu Pro Leu Gln Ala Ala Thr  
 115 120 125

Val Ile Pro Phe Gln Leu Leu Ala Gly Phe Ala Met Trp Cys Met Trp  
 130 135 140

Cys Ile Gly His Asp Ala Gly His Ser Thr Val Ser Lys Thr Lys Trp  
 145 150 155 160

Ile Asn Arg Val Val Gly Glu Val Ala His Ser Val Val Cys Leu Thr  
 165 170 175

Pro Phe Val Pro Trp Gln Met Ser His Arg Lys His His Leu Asn His  
 180 185 190

Asn His Ile Glu Lys Asp Tyr Ser His Lys Trp Tyr Ser Arg Asp Glu  
 195 200 205

Phe Asp Asp Ile Pro Gln Leu Tyr Lys Thr Phe Gly Tyr Asn Pro Arg  
 210 215 220

Met Met Gln Leu Pro Phe Leu Tyr Phe Met Tyr Leu Ala Leu Gly Ile  
 225 230 235 240



```
<210> 107
<211> 1086
<212> DNA
<213> Ostreococcus tauri

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1086)
<223> Delta-12-Desaturase
```

<400> 107																
atg	cag	gag	ggg	gtg	cga	aac	att	ccg	aac	gag	tgc	ttt	gag	acg	gga	48
Met	Gln	Glu	Gly	Val	Arg	Asn	Ile	Pro	Asn	Glu	Cys	Phe	Glu	Thr	Gly	
1				5					10					15		
cat	ctt	gaa	aga	ccc	tgg	cgt	tcc	ggc	cgg	tgt	ggg	cgc	gat	ccc	ggc	96
His	Leu	Glu	Arg	Pro	Trp	Arg	Ser	Gly	Arg	Cys	Gly	Arg	Asp	Pro	Gly	

20	25	30	
tcg aat tgg ggc gct ggc ttc cgc ttt ttt tgc ctc aag ggg ttt tgg Ser Asn Trp Gly Ala Gly Phe Arg Phe Phe Ser Leu Lys Gly Phe Trp 35 40 45			144
tgg ccg gcg tgg tgg gcg tac gcg ttc gtg acg ggg acg gcg gcc act Trp Pro Ala Trp Trp Ala Tyr Ala Phe Val Thr Gly Thr Ala Ala Thr 50 55 60			192
ggg tgt tgg gtc gcc gcg cac gag tgc ggg cac ggc gcg ttc agc gat Gly Cys Trp Val Ala Ala His Glu Cys Gly His Gly Ala Phe Ser Asp 65 70 75 80			240
aac aag acg ttg caa gat gcg gtt gga tac gtg ttg cac tgc ttg ctc Asn Lys Thr Leu Gln Asp Ala Val Gly Tyr Val Leu His Ser Leu Leu 85 90 95			288
ttg gtg ccg tac ttt tct tgg cag cga tca cac gcg gtg cat cac tgc Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Gln Arg Ser His Ala Val His His Ser 100 105 110			336
agg acg aat cac gtt ctt gag ggc gag acg cac gtg ccg gcg cgc ttg Arg Thr Asn His Val Leu Glu Gly Glu Thr His Val Pro Ala Arg Leu 115 120 125			384
ggg acg gaa gac gcc aac gtc gtg ttc aag ctt cgc gaa ttg atc ggt Gly Thr Glu Asp Ala Asn Val Val Phe Lys Leu Arg Glu Leu Ile Gly 130 135 140			432
gaa ggg ccg ttc acg ttt ttc aac ctc gtc ggc gtc ttc gcg ctc gga Glu Gly Pro Phe Thr Phe Phe Asn Leu Val Gly Val Phe Ala Leu Gly 145 150 155 160			480
tgg ccg att tac ttg ctc acc ggc gcg agc ggc gga ccg gtg cgc ggt Trp Pro Ile Tyr Leu Leu Thr Gly Ala Ser Gly Gly Pro Val Arg Gly 165 170 175			528
aac acg aac cac ttc tta ccc ttc atg ggc gag aaa ggt aag cac gcg Asn Thr Asn His Phe Leu Pro Phe Met Gly Glu Lys Gly Lys His Ala 180 185 190			576
ctg ttc ccg ggt aag tgg gcg aag aag gtg tgg cag tct gac atc ggc Leu Phe Pro Gly Lys Trp Ala Lys Lys Val Trp Gln Ser Asp Ile Gly 195 200 205			624
gtt gtt gcc gtc ctg ggc gcg ctc gcg gct tgg gcg gcg cac agc ggg Val Val Ala Val Leu Gly Ala Leu Ala Ala Trp Ala Ala His Ser Gly 210 215 220			672
att gcc aca gtg atg gca ctc tac gtc ggc ccg tac atg gtg acc aac Ile Ala Thr Val Met Ala Leu Tyr Val Gly Pro Tyr Met Val Thr Asn 225 230 235 240			720
ttt tgg ctc gtc ttg tac acg tgg tta cag cac acc gac gtt gac gtg Phe Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Thr Asp Val Asp Val 245 250 255			768
ccg cac ttc gag ggc gac gat tgg aac ttg gtc aag ggg gca ttc atg Pro His Phe Gly Asp Asp Trp Asn Leu Val Lys Gly Ala Phe Met 260 265 270			816
acg atc gat cgc ccg tac ggc cca gtt ttt gat ttc ttg cac cac cgc Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Pro Val Phe Asp Phe Leu His His Arg 275 280 285			864
atc ggc agc acg cac gtc gcg cac cac atc aac aca cca ttc ccg cat Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Ile Asn Thr Pro Phe Pro His			912

172

290                      295                      300  
 tac aag gct caa atg gcg acg gat gcg cta aag gag gcg tat ccc gac      960  
 Tyr Lys Ala Gln Met Ala Thr Asp Ala Leu Lys Glu Ala Tyr Pro Asp  
 305                      310                      315                      320  
  
 ctc tac ctt tac gat cca act ccg atc gcg acc gct acg tgg cgc gtg      1008  
 Leu Tyr Leu Tyr Asp Pro Thr Pro Ile Ala Thr Ala Thr Trp Arg Val  
                          325                      330                      335  
  
 ggg agc aag tgc atc gcc gtc gtg aag aag gga gac gaa tgg gtg ttc      1056  
 Gly Ser Lys Cys Ile Ala Val Val Lys Lys Gly Asp Glu Trp Val Phe  
                          340                      345                      350  
  
 acg gat aag caa ctc ccg gtc gcg gcg tga      1086  
 Thr Asp Lys Gln Leu Pro Val Ala Ala  
                          355                      360  
  
 <210> 108  
 <211> 361  
 <212> PRT  
 <213> *Ostreococcus tauri*  
  
 <400> 108  
  
 Met Gln Glu Gly Val Arg Asn Ile Pro Asn Glu Cys Phe Glu Thr Gly  
 1                      5                      10                      15  
  
 His Leu Glu Arg Pro Trp Arg Ser Gly Arg Cys Gly Arg Asp Pro Gly  
                          20                      25                      30  
  
 Ser Asn Trp Gly Ala Gly Phe Arg Phe Phe Ser Leu Lys Gly Phe Trp  
                          35                      40                      45  
  
 Trp Pro Ala Trp Trp Ala Tyr Ala Phe Val Thr Gly Thr Ala Ala Thr  
                          50                      55                      60  
  
 Gly Cys Trp Val Ala Ala His Glu Cys Gly His Gly Ala Phe Ser Asp  
 65                      70                      75                      80  
  
 Asn Lys Thr Leu Gln Asp Ala Val Gly Tyr Val Leu His Ser Leu Leu  
                          85                      90                      95  
  
 Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Gln Arg Ser His Ala Val His His Ser  
                          100                      105                      110  
  
 Arg Thr Asn His Val Leu Glu Gly Glu Thr His Val Pro Ala Arg Leu  
                          115                      120                      125  
  
 Gly Thr Glu Asp Ala Asn Val Val Phe Lys Leu Arg Glu Leu Ile Gly  
                          130                      135                      140  
  
 Glu Gly Pro Phe Thr Phe Phe Asn Leu Val Gly Val Phe Ala Leu Gly  
 145                      150                      155                      160  
  
 Trp Pro Ile Tyr Leu Leu Thr Gly Ala Ser Gly Gly Pro Val Arg Gly  
                          165                      170                      175

Asn Thr Asn His Phe Leu Pro Phe Met Gly Glu Lys Gly Lys His Ala  
 180 185 190  
 Leu Phe Pro Gly Lys Trp Ala Lys Lys Val Trp Gln Ser Asp Ile Gly  
 195 200 205  
 Val Val Ala Val Leu Gly Ala Leu Ala Ala Trp Ala Ala His Ser Gly  
 210 215 220  
 Ile Ala Thr Val Met Ala Leu Tyr Val Gly Pro Tyr Met Val Thr Asn  
 225 230 235 240  
 Phe Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Thr Asp Val Asp Val  
 245 250 255  
 Pro His Phe Glu Gly Asp Asp Trp Asn Leu Val Lys Gly Ala Phe Met  
 260 265 270  
 Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Pro Val Phe Asp Phe Leu His His Arg  
 275 280 285  
 Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Ile Asn Thr Pro Phe Pro His  
 290 295 300  
 Tyr Lys Ala Gln Met Ala Thr Asp Ala Leu Lys Glu Ala Tyr Pro Asp  
 305 310 315 320  
 Leu Tyr Leu Tyr Asp Pro Thr Pro Ile Ala Thr Ala Thr Trp Arg Val  
 325 330 335  
 Gly Ser Lys Cys Ile Ala Val Val Lys Lys Gly Asp Glu Trp Val Phe  
 340 345 350  
 Thr Asp Lys Gln Leu Pro Val Ala Ala  
 355 360

<210> 109  
 <211> 1305  
 <212> DNA  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(1305)  
 <223> Delta-12-Desaturase

<400> 109  
 atg gga aag gga gga aga tca gta acc cgc gct caa aca gca gaa aag  
 Met Gly Lys Gly Gly Arg Ser Val Thr Arg Ala Gln Thr Ala Glu Lys  
 1 5 10 15  
 tca gca cac acc atc caa acc ttc acc gac ggc cga tgg gtc tcc ccc  
 Ser Ala His Thr Ile Gln Thr Phe Thr Asp Gly Arg Trp Val Ser Pro

48

96

20	25	30	
tac aac ccc ctc gca aaa gat gca cct gaa ctc ccc tcc aag ggt gaa Tyr Asn Pro Leu Ala Lys Asp Ala Pro Glu Leu Pro Ser Lys Gly Glu 35 40 45			144
atc aag gcg gtc atc ccc aaa gag tgc ttc gaa cga agc tac ctc cac Ile Lys Ala Val Ile Pro Lys Glu Cys Phe Glu Arg Ser Tyr Leu His 50 55 60			192
tcc atg tac ttc gtc ctc cgt gac acc gtc atg gcc gtg gcc tgc gcc Ser Met Tyr Phe Val Leu Arg Asp Thr Val Met Ala Val Ala Cys Ala 65 70 75 80			240
tac atc gcc cac tca acg ctc tcc acc gat att ccc tcc gag tta ctg Tyr Ile Ala His Ser Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Ser Glu Leu Leu 85 90 95			288
agc gtg gac gca ctc aaa tgg ttc ctc gga tgg aac acc tac gcc ttt Ser Val Asp Ala Leu Lys Trp Phe Leu Gly Trp Asn Thr Tyr Ala Phe 100 105 110			336
tgg atg ggg tgc att ctc acc gga cac tgg gtc cta gcc cat gaa tgt Trp Met Gly Cys Ile Leu Thr Gly His Trp Val Leu Ala His Glu Cys 115 120 125			384
gga cat ggt gca ttc tct ccc tct cag acg ttt aat gac ttt tgg ggg Gly His Gly Ala Phe Ser Pro Ser Gln Thr Phe Asn Asp Phe Trp Gly 130 135 140			432
ttc att atg cat cag gcg gtg ttg gtt ccg tat ttc gcc tgg cag tac Phe Ile Met His Gln Ala Val Leu Val Pro Tyr Phe Ala Trp Gln Tyr 145 150 155 160			480
tct cat gcg aag cat cat cga cgt acc aac aac att atg gat ggg gag Ser His Ala Lys His His Arg Arg Thr Asn Asn Ile Met Asp Gly Glu 165 170 175			528
agc cat gtg ccc aat atc gcc aag gaa atg gga ttg aac gag aag aat Ser His Val Pro Asn Ile Ala Lys Glu Met Gly Leu Asn Glu Lys Asn 180 185 190			576
gag cgc agt gga gga tat gcc gcc att cat gag gct att gga gat gga Glu Arg Ser Gly Gly Tyr Ala Ala Ile His Glu Ala Ile Gly Asp Gly 195 200 205			624
ccc ttt gcg atg ttt caa atc ttt gct cac ttg gtg atc ggg tgg cct Pro Phe Ala Met Phe Gln Ile Phe Ala His Leu Val Ile Gly Trp Pro 210 215 220			672
att tac ttg atg gga ttt gct tcc act gga cgt ctc ggt cag gat ggg Ile Tyr Leu Met Gly Phe Ala Ser Thr Gly Arg Leu Gly Gln Asp Gly 225 230 235 240			720
aag gaa ctt cag gct gga gag atc atc gac cat tac cgt cct tgg agt Lys Glu Leu Gln Ala Gly Glu Ile Ile Asp His Tyr Arg Pro Trp Ser 245 250 255			768
aag atg ttc ccc acc aag ttg cga ttc aaa att gct ctt tcg aca ctt Lys Met Phe Pro Thr Lys Leu Arg Phe Lys Ile Ala Leu Ser Thr Leu 260 265 270			816
gga gtg att gcc gcc tgg gtt ggg ttg tac ttt gct gca caa gag tat Gly Val Ile Ala Ala Trp Val Gly Leu Tyr Phe Ala Ala Gln Glu Tyr 275 280 285			864
gga gtc ttg ccc gtg gtt ctt tgg tac att ggc cca ctc atg tgg aat Gly Val Leu Pro Val Val Leu Trp Tyr Ile Gly Pro Leu Met Trp Asn			912

175

290 295 300

cag gcg tgg ctt gtg ctc tac act tgg ctt cag cac aat gat ccc tcc 960  
 Gln Ala Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Asn Asp Pro Ser  
 305 310 315 320

gtg cct caa tat gga agt gac gaa tgg aca tgg gtc aag gga gct ttg 1008  
 Val Pro Gln Tyr Gly Ser Asp Glu Trp Thr Trp Val Lys Gly Ala Leu  
 325 330 335

tcg acg att gat cgc ccg tat ggt atc ttt gac ttc ttc cat cac aag 1056  
 Ser Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Ile Phe Asp Phe Phe His His Lys  
 340 345 350

att gga agc act cac gta gct cat cat ttg ttc cac gag atg cca ttt 1104  
 Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Leu Phe His Glu Met Pro Phe  
 355 360 365

tac aag gcg gat gtg gct act gcg tcg atc aag ggt ttc ttg gag ccg 1152  
 Tyr Lys Ala Asp Val Ala Thr Ala Ser Ile Lys Gly Phe Leu Glu Pro  
 370 375 380

aag gga ctt tac aac tat gat cca acg cct tgg tat gtg gcc atg tgg 1200  
 Lys Gly Leu Tyr Asn Tyr Asp Pro Thr Pro Trp Tyr Val Ala Met Trp  
 385 390 395 400

agg gtg gcc aag act tgt cat tat att gag gat gtg gat gga gtt cag 1248  
 Arg Val Ala Lys Thr Cys His Tyr Ile Glu Asp Val Asp Gly Val Gln  
 405 410 415

tat tat aag agt ttg gag gat gtg cct ttg aag aag gat gcc aag aag 1296  
 Tyr Tyr Lys Ser Leu Glu Asp Val Pro Leu Lys Lys Asp Ala Lys Lys  
 420 425 430

tct gat tag 1305  
 Ser Asp

<210> 110  
 <211> 434  
 <212> PRT  
 <213> *Thalassiosira pseudonana*

<400> 110

Met Gly Lys Gly Gly Arg Ser Val Thr Arg Ala Gln Thr Ala Glu Lys  
 1 5 10 15

Ser Ala His Thr Ile Gln Thr Phe Thr Asp Gly Arg Trp Val Ser Pro  
 20 25 30

Tyr Asn Pro Leu Ala Lys Asp Ala Pro Glu Leu Pro Ser Lys Gly Glu  
 35 40 45

Ile Lys Ala Val Ile Pro Lys Glu Cys Phe Glu Arg Ser Tyr Leu His  
 50 55 60

Ser Met Tyr Phe Val Leu Arg Asp Thr Val Met Ala Val Ala Cys Ala  
 65 70 75 80

Tyr Ile Ala His Ser Thr Leu Ser Thr Asp Ile Pro Ser Glu Leu Leu  
 85 90 95

Ser Val Asp Ala Leu Lys Trp Phe Leu Gly Trp Asn Thr Tyr Ala Phe  
 100 105 110

Trp Met Gly Cys Ile Leu Thr Gly His Trp Val Leu Ala His Glu Cys  
 115 120 125

Gly His Gly Ala Phe Ser Pro Ser Gln Thr Phe Asn Asp Phe Trp Gly  
 130 135 140

Phe Ile Met His Gln Ala Val Leu Val Pro Tyr Phe Ala Trp Gln Tyr  
 145 150 155 160

Ser His Ala Lys His His Arg Arg Thr Asn Asn Ile Met Asp Gly Glu  
 165 170 175

Ser His Val Pro Asn Ile Ala Lys Glu Met Gly Leu Asn Glu Lys Asn  
 180 185 190

Glu Arg Ser Gly Gly Tyr Ala Ala Ile His Glu Ala Ile Gly Asp Gly  
 195 200 205

Pro Phe Ala Met Phe Gln Ile Phe Ala His Leu Val Ile Gly Trp Pro  
 210 215 220

Ile Tyr Leu Met Gly Phe Ala Ser Thr Gly Arg Leu Gly Gln Asp Gly  
 225 230 235 240

Lys Glu Leu Gln Ala Gly Glu Ile Ile Asp His Tyr Arg Pro Trp Ser  
 245 250 255

Lys Met Phe Pro Thr Lys Leu Arg Phe Lys Ile Ala Leu Ser Thr Leu  
 260 265 270

Gly Val Ile Ala Ala Trp Val Gly Leu Tyr Phe Ala Ala Gln Glu Tyr  
 275 280 285

Gly Val Leu Pro Val Val Leu Trp Tyr Ile Gly Pro Leu Met Trp Asn  
 290 295 300

Gln Ala Trp Leu Val Leu Tyr Thr Trp Leu Gln His Asn Asp Pro Ser  
 305 310 315 320

Val Pro Gln Tyr Gly Ser Asp Glu Trp Thr Trp Val Lys Gly Ala Leu  
 325 330 335

Ser Thr Ile Asp Arg Pro Tyr Gly Ile Phe Asp Phe Phe His His Lys  
 340 345 350

Ile Gly Ser Thr His Val Ala His His Leu Phe His Glu Met Pro Phe  
 355 360 365

Tyr Lys Ala Asp Val Ala Thr Ala Ser Ile Lys Gly Phe Leu Glu Pro  
370 375 380

Lys Gly Leu Tyr Asn Tyr Asp Pro Thr Pro Trp Tyr Val Ala Met Trp  
385 390 395 400

Arg Val Ala Lys Thr Cys His Tyr Ile Glu Asp Val Asp Gly Val Gln  
405 410 415

Tyr Tyr Lys Ser Leu Glu Asp Val Pro Leu Lys Lys Asp Ala Lys Lys  
420 425 430

Ser Asp

<210> 111  
<211> 879  
<212> DNA  
<213> *Ostreococcus tauri*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(879)  
<223> Delta-6-Elongase

<400> 111  
atg agt ggc tta cgt gca ccc aac ttt tta cac aga ttc tgg aca aag .48  
Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys  
1 5 10 15  
tgg gac tac gcg att tcc aaa gtc gtc ttc acg tgt gcc gac agt ttt 96  
Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe  
20 25 30  
cag tgg gac atc ggg cca gtg agt tgc agt acg gcg cat tta ccc gcc 144  
Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala  
35 40 45  
att gaa tcc cct acc cca ctg gtg act agc ctc ttg ttc tac tta gtc 192  
Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val  
50 55 60  
aca gtt ttc ttg tgg tat ggt cgt tta acc agg agt tca gac aag aaa 240  
Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys  
65 70 75 80  
att aga gag cct acg tgg tta aga aga ttc ata ata tgt cat aat gcg 288  
Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala  
85 90 95  
ttc ttg ata gtc ctc agt ctt tac atg tgc ctt ggt tgt gtg gcc caa 336  
Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln  
100 105 110  
gcg tat cag aat gga tat act tta tgg ggt aat gaa ttc aag gcc acg 384  
Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr  
115 120 125  
gaa act cag ctt gct ctc tac att tac att ttt tac gta agt aaa ata 432  
Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile



178

130	135	140	
tac gag ttt gta gat act tac att atg ctt ctc aag aat aac ttg cgg			480
Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg			
145	150	155	160
caa gta agt ttc cta cac att tat cac cac agc acg att tcc ttt att			528
Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile			
	165	170	175
tgg tgg atc att gct cgg agg gct ccg ggt ggt gat gct tac ttc agc			576
Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser			
	180	185	190
gcg gcc ttg aac tca tgg gta cac gtg tgc atg tac acc tat tat cta			624
Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu			
	195	200	205
tta tca acc ctt att gga aaa gaa gat cct aag cgt tcc aac tac ctt			672
Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu			
	210	215	220
tgg tgg ggt cgc cac cta acg caa atg cag atg ctt cag ttt ttc ttc			720
Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe			
	225	230	235
aac gta ctt caa gcg ttg tac tgc gct tgc ttc tct acg tat ccc aag			768
Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys			
	245	250	255
ttt ttg tcc aaa att ctg ctc gtc tat atg atg agc ctt ctc ggc ttg			816
Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu			
	260	265	270
ttt ggg cat ttc tac tat tcc aag cac ata gca gca gct aag ctc cag			864
Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln			
	275	280	285
aaa aaa cag cag tga			879
Lys Lys Gln Gln			
	290		

&lt;210&gt; 112

&lt;211&gt; 292

&lt;212&gt; PRT

<213> *Ostreococcus tauri*

&lt;400&gt; 112

Met Ser Gly Leu Arg Ala Pro Asn Phe Leu His Arg Phe Trp Thr Lys
1 5 10 15

Trp Asp Tyr Ala Ile Ser Lys Val Val Phe Thr Cys Ala Asp Ser Phe
20 25 30

Gln Trp Asp Ile Gly Pro Val Ser Ser Ser Thr Ala His Leu Pro Ala
35 40 45

Ile Glu Ser Pro Thr Pro Leu Val Thr Ser Leu Leu Phe Tyr Leu Val
50 55 60

Thr Val Phe Leu Trp Tyr Gly Arg Leu Thr Arg Ser Ser Asp Lys Lys
65 70 75 80

Ile Arg Glu Pro Thr Trp Leu Arg Arg Phe Ile Ile Cys His Asn Ala  
 85 90 95  
 Phe Leu Ile Val Leu Ser Leu Tyr Met Cys Leu Gly Cys Val Ala Gln  
 100 105 110  
 Ala Tyr Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Trp Gly Asn Glu Phe Lys Ala Thr  
 115 120 125  
 Glu Thr Gln Leu Ala Leu Tyr Ile Tyr Ile Phe Tyr Val Ser Lys Ile  
 130 135 140  
 Tyr Glu Phe Val Asp Thr Tyr Ile Met Leu Leu Lys Asn Asn Leu Arg  
 145 150 155 160  
 Gln Val Ser Phe Leu His Ile Tyr His His Ser Thr Ile Ser Phe Ile  
 165 170 175  
 Trp Trp Ile Ile Ala Arg Arg Ala Pro Gly Gly Asp Ala Tyr Phe Ser  
 180 185 190  
 Ala Ala Leu Asn Ser Trp Val His Val Cys Met Tyr Thr Tyr Tyr Leu  
 195 200 205  
 Leu Ser Thr Leu Ile Gly Lys Glu Asp Pro Lys Arg Ser Asn Tyr Leu  
 210 215 220  
 Trp Trp Gly Arg His Leu Thr Gln Met Gln Met Leu Gln Phe Phe Phe  
 225 230 235 240  
 Asn Val Leu Gln Ala Leu Tyr Cys Ala Ser Phe Ser Thr Tyr Pro Lys  
 245 250 255  
 Phe Leu Ser Lys Ile Leu Leu Val Tyr Met Met Ser Leu Leu Gly Leu  
 260 265 270  
 Phe Gly His Phe Tyr Tyr Ser Lys His Ile Ala Ala Ala Lys Leu Gln  
 275 280 285  
 Lys Lys Gln Gln  
 290  
 <210> 113  
 <211> 903  
 <212> DNA  
 <213> *Ostreococcus tauri*  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(903)  
 <223> Delta-5-Elongase

atg	agc	gcc	tcc	ggt	gcg	ctg	ctg	ccc	gcg	atc	gcg	ttc	gcc	gcg	tac	48
Met	Ser	Ala	Ser	Gly	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Phe	Ala	Ala	Tyr	
1				5					10					15		
gcg	tac	gcg	acg	tac	gcc	tac	gcc	ttt	gag	tgg	tcg	cac	gcg	aat	ggc	96
Ala	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Ala	Tyr	Ala	Phe	Glu	Trp	Ser	His	Ala	Asn	Gly	
			20					25					30			
atc	gac	aac	gtc	gac	gcg	cgc	gag	tgg	atc	ggt	gcg	ctg	tcg	ttg	agg	144
Ile	Asp	Asn	Val	Asp	Ala	Arg	Glu	Trp	Ile	Gly	Ala	Leu	Ser	Leu	Arg	
		35					40					45				
ctc	ccg	gcg	atc	gcg	acg	acg	atg	tac	ctg	ttg	ttc	tgc	ctg	gtc	gga	192
Leu	Pro	Ala	Ile	Ala	Thr	Thr	Met	Tyr	Leu	Leu	Phe	Cys	Leu	Val	Gly	
	50					55					60					
ccg	agg	ttg	atg	gcg	aag	cgc	gag	gcg	ttc	gac	ccg	aag	ggg	ttc	atg	240
Pro	Arg	Leu	Met	Ala	Lys	Arg	Glu	Ala	Phe	Asp	Pro	Lys	Gly	Phe	Met	
65					70					75				80		
ctg	gcg	tac	aat	gcg	tat	cag	acg	gcg	ttc	aac	gtc	gtc	gtg	ctc	ggg	288
Leu	Ala	Tyr	Asn	Ala	Tyr	Gln	Thr	Ala	Phe	Asn	Val	Val	Val	Leu	Gly	
				85					90					95		
atg	ttc	gcg	cga	gag	atc	tcg	ggg	ctg	ggg	cag	ccc	gtg	tgg	ggg	tca	336
Met	Phe	Ala	Arg	Glu	Ile	Ser	Gly	Leu	Gly	Gln	Pro	Val	Trp	Gly	Ser	
			100					105					110			
acc	atg	ccg	tgg	agc	gat	aga	aaa	tcg	ttt	aag	atc	ctc	ctc	ggg	gtg	384
Thr	Met	Pro	Trp	Ser	Asp	Arg	Lys	Ser	Phe	Lys	Ile	Leu	Leu	Gly	Val	
		115				120						125				
tgg	ttg	cac	tac	aac	aac	aaa	tat	ttg	gag	cta	ttg	gac	act	gtg	ttc	432
Trp	Leu	His	Tyr	Asn	Asn	Lys	Tyr	Leu	Glu	Leu	Leu	Asp	Thr	Val	Phe	
	130					135					140					
atg	gtt	gcg	cgc	aag	aag	acg	aag	cag	ttg	agc	ttc	ttg	cac	gtt	tat	480
Met	Val	Ala	Arg	Lys	Lys	Thr	Lys	Gln	Leu	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	
145					150					155					160	
cat	cac	gcc	ctg	ttg	atc	tgg	gcg	tgg	tgg	ttg	gtg	tgt	cac	ttg	atg	528
His	His	Ala	Leu	Leu	Ile	Trp	Ala	Trp	Trp	Leu	Val	Cys	His	Leu	Met	
				165					170					175		
gcc	acg	aac	gat	tgt	atc	gat	gcc	tac	ttc	ggc	gcg	gcg	tgc	aac	tcg	576
Ala	Thr	Asn	Asp	Cys	Ile	Asp	Ala	Tyr	Phe	Gly	Ala	Ala	Cys	Asn	Ser	
			180					185					190			
ttc	att	cac	atc	gtg	atg	tac	tcg	tat	tat	ctc	atg	tcg	gcg	ctc	ggc	624
Phe	Ile	His	Ile	Val	Met	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Leu	Met	Ser	Ala	Leu	Gly	
		195					200									

181

260 265 270  
 cgc ggc gac ggc gcg agt tcc gtg aaa cca gcc gag acc acg cgc gcg 864  
 Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala  
 275 280 285  
 ccc agc gtg cga cgc acg cga tct cga aaa att gac taa 903  
 Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp  
 290 295 300  
  
 <210> 114  
 <211> 300  
 <212> PRT  
 <213> *Ostreococcus tauri*  
  
 <400> 114  
 Met Ser Ala Ser Gly Ala Leu Leu Pro Ala Ile Ala Phe Ala Ala Tyr  
 1 5 10 15  
 Ala Tyr Ala Thr Tyr Ala Tyr Ala Phe Glu Trp Ser His Ala Asn Gly  
 20 25 30  
 Ile Asp Asn Val Asp Ala Arg Glu Trp Ile Gly Ala Leu Ser Leu Arg  
 35 40 45  
 Leu Pro Ala Ile Ala Thr Thr Met Tyr Leu Leu Phe Cys Leu Val Gly  
 50 55 60  
 Pro Arg Leu Met Ala Lys Arg Glu Ala Phe Asp Pro Lys Gly Phe Met  
 65 70 75 80  
 Leu Ala Tyr Asn Ala Tyr Gln Thr Ala Phe Asn Val Val Val Leu Gly  
 85 90 95  
 Met Phe Ala Arg Glu Ile Ser Gly Leu Gly Gln Pro Val Trp Gly Ser  
 100 105 110  
 Thr Met Pro Trp Ser Asp Arg Lys Ser Phe Lys Ile Leu Leu Gly Val  
 115 120 125  
 Trp Leu His Tyr Asn Asn Lys Tyr Leu Glu Leu Leu Asp Thr Val Phe  
 130 135 140  
 Met Val Ala Arg Lys Lys Thr Lys Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr  
 145 150 155 160  
 His His Ala Leu Leu Ile Trp Ala Trp Trp Leu Val Cys His Leu Met  
 165 170 175  
 Ala Thr Asn Asp Cys Ile Asp Ala Tyr Phe Gly Ala Ala Cys Asn Ser  
 180 185 190  
 Phe Ile His Ile Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Leu Met Ser Ala Leu Gly  
 195 200 205

Ile Arg Cys Pro Trp Lys Arg Tyr Ile Thr Gln Ala Gln Met Leu Gln  
 210 215 220

Phe Val Ile Val Phe Ala His Ala Val Phe Val Leu Arg Gln Lys His  
 225 230 235 240

Cys Pro Val Thr Leu Pro Trp Ala Gln Met Phe Val Met Thr Asn Met  
 245 250 255

Leu Val Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Leu Lys Ala Tyr Ser Asn Lys Ser  
 260 265 270

Arg Gly Asp Gly Ala Ser Ser Val Lys Pro Ala Glu Thr Thr Arg Ala  
 275 280 285

Pro Ser Val Arg Arg Thr Arg Ser Arg Lys Ile Asp  
 290 295 300

<210> 115

<211> 13

<212> PRT

<213> Konsensus

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(13)

<223> Xaa in der Sequenz an der Position 2, 3, 4, 6, 7, 8 und 9 hat die  
 in Tabelle A wiedergegebene Bedeutung.

<400> 115

Asn Xaa Xaa Xaa His Xaa Xaa Met Tyr Xaa Tyr Tyr Xaa  
 1 5 10

<210> 116

<211> 10

<212> PRT

<213> Konsensus

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(10)

<223> Xaa an der Position 3, 4, 5 und 6 in der Sequenz hat die in Tabel  
 le A wiedergegebene Bedeutung.

<400> 116

His His Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Ala Trp Trp  
 1 5 10

<210> 117

<211> 909

<212> DNA

<213> Xenopus laevis

<220>

<221> CDS  
 <222> (1)..(909)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 117  
 atg gcc ttc aag gag ctc aca tca agg gca gtg ctc ctg tat gat gaa 48  
 Met Ala Phe Lys Glu Leu Thr Ser Arg Ala Val Leu Leu Tyr Asp Glu  
 1 5 10 15  
 tgg att aaa gat gct gat cct agg gtt gaa gac tgg cca ctc atg tcc 96  
 Trp Ile Lys Asp Ala Asp Pro Arg Val Glu Asp Trp Pro Leu Met Ser  
 20 25 30  
 tct cct atc cta caa acc atc atc atc ggc gct tac atc tac ttt gtc 144  
 Ser Pro Ile Leu Gln Thr Ile Ile Ile Gly Ala Tyr Ile Tyr Phe Val  
 35 40 45  
 aca tca ttg ggc cca agg atc atg gag aac agg aag ccg ttt gct ctg 192  
 Thr Ser Leu Gly Pro Arg Ile Met Glu Asn Arg Lys Pro Phe Ala Leu  
 50 55 60  
 aag gag atc atg gca tgt tac aac tta ttc atg gtt ctg ttt tct gtg 240  
 Lys Glu Ile Met Ala Cys Tyr Asn Leu Phe Met Val Leu Phe Ser Val  
 65 70 75 80  
 tac atg tgc tat gag ttt ctc atg tgc ggc tgg gct act gga tat tcc 288  
 Tyr Met Cys Tyr Glu Phe Leu Met Ser Gly Trp Ala Thr Gly Tyr Ser  
 85 90 95  
 ttt aga tgt gac att gtt gac tac tct cag tca cct cag gcg tta cgg 336  
 Phe Arg Cys Asp Ile Val Asp Tyr Ser Gln Ser Pro Gln Ala Leu Arg  
 100 105 110  
 atg gcc tgg acc tgc tgg ctc ttc tat ttt tca aag ttc att gaa tta 384  
 Met Ala Trp Thr Cys Trp Leu Phe Tyr Phe Ser Lys Phe Ile Glu Leu  
 115 120 125  
 tta gac act gtt ttc ttt gtg ctg cgt aag aag aac agc cag att aca 432  
 Leu Asp Thr Val Phe Phe Val Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Ile Thr  
 130 135 140  
 ttc ctg cac gtc tat cac cac tcc att atg cct tgg acg tgg tgg ttt 480  
 Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ile Met Pro Trp Thr Trp Trp Phe  
 145 150 155 160  
 gga gtc aaa ttt gct cca ggt ggt ttg ggc aca ttc cat gca ctg gtg 528  
 Gly Val Lys Phe Ala Pro Gly Gly Leu Gly Thr Phe His Ala Leu Val  
 165 170 175  
 aac tgt gtg gtc cat gtt atc atg tac agc tac tac ggc ctg tca gcc 576  
 Asn Cys Val Val His Val Ile Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala  
 180 185 190  
 ttg ggg cct gcc tac cag aag tac ctg tgg tgg aaa aag tac atg acg 624  
 Leu Gly Pro Ala Tyr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Met Thr  
 195 200 205  
 tct atc caa ctg acc cag ttc ttg atg gtt act ttt cac atc ggc cag 672  
 Ser Ile Gln Leu Thr Gln Phe Leu Met Val Thr Phe His Ile Gly Gln  
 210 215 220  
 ttc ttc ttc atg gag aat tgc ccg tac cag tat ccc gtc ttc ttg tat 720  
 Phe Phe Phe Met Glu Asn Cys Pro Tyr Gln Tyr Pro Val Phe Leu Tyr  
 225 230 235 240  
 gtc att tgg ctg tac ggg ttc gtt ttc tta atc ttg ttc ctc aac ttc 768  
 Val Ile Trp Leu Tyr Gly Phe Val Phe Leu Ile Leu Phe Leu Asn Phe

## 184

245	250	255	
tgg ttc cac gct tac atc aaa gga cag agg ctg ccg aaa gcc gtc caa			816
Trp Phe His Ala Tyr Ile Lys Gly Gln Arg Leu Pro Lys Ala Val Gln			
260	265	270	
aat ggc cac tgc aag aac aac aac aac caa gaa aac act tgg tgc aag			864
Asn Gly His Cys Lys Asn Asn Asn Asn Gln Glu Asn Thr Trp Cys Lys			
275	280	285	
aac aaa aac cag aaa aac ggt gca ttg aaa agc aaa aac cat tga			909
Asn Lys Asn Gln Lys Asn Gly Ala Leu Lys Ser Lys Asn His			
290	295	300	
<210> 118			
<211> 302			
<212> PRT			
<213> Xenopus laevis			
<400> 118			
Met Ala Phe Lys Glu Leu Thr Ser Arg Ala Val Leu Leu Tyr Asp Glu			
1	5	10	15
Trp Ile Lys Asp Ala Asp Pro Arg Val Glu Asp Trp Pro Leu Met Ser			
20	25	30	
Ser Pro Ile Leu Gln Thr Ile Ile Ile Gly Ala Tyr Ile Tyr Phe Val			
35	40	45	
Thr Ser Leu Gly Pro Arg Ile Met Glu Asn Arg Lys Pro Phe Ala Leu			
50	55	60	
Lys Glu Ile Met Ala Cys Tyr Asn Leu Phe Met Val Leu Phe Ser Val			
65	70	75	80
Tyr Met Cys Tyr Glu Phe Leu Met Ser Gly Trp Ala Thr Gly Tyr Ser			
85	90	95	
Phe Arg Cys Asp Ile Val Asp Tyr Ser Gln Ser Pro Gln Ala Leu Arg			
100	105	110	
Met Ala Trp Thr Cys Trp Leu Phe Tyr Phe Ser Lys Phe Ile Glu Leu			
115	120	125	
Leu Asp Thr Val Phe Phe Val Leu Arg Lys Lys Asn Ser Gln Ile Thr			
130	135	140	
Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ile Met Pro Trp Thr Trp Trp Phe			
145	150	155	160
Gly Val Lys Phe Ala Pro Gly Gly Leu Gly Thr Phe His Ala Leu Val			
165	170	175	
Asn Cys Val Val His Val Ile Met Tyr Ser Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala			
180	185	190	

Leu Gly Pro Ala Tyr Gln Lys Tyr Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Met Thr  
195 200 205

Ser Ile Gln Leu Thr Gln Phe Leu Met Val Thr Phe His Ile Gly Gln  
210 215 220

Phe Phe Phe Met Glu Asn Cys Pro Tyr Gln Tyr Pro Val Phe Leu Tyr  
225 230 235 240

Val Ile Trp Leu Tyr Gly Phe Val Phe Leu Ile Leu Phe Leu Asn Phe  
245 250 255

Trp Phe His Ala Tyr Ile Lys Gly Gln Arg Leu Pro Lys Ala Val Gln  
260 265 270

Asn Gly His Cys Lys Asn Asn Asn Asn Gln Glu Asn Thr Trp Cys Lys  
275 280 285

Asn Lys Asn Gln Lys Asn Gly Ala Leu Lys Ser Lys Asn His  
290 295 300

<210> 119  
<211> 870  
<212> DNA  
<213> Ciona intestinalis  
  
<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(870)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 119 48  
atg gac gta ctt cat cgt ttc tta gga ttc tac gaa tgg acg ctg act  
Met Asp Val Leu His Arg Phe Leu Gly Phe Tyr Glu Trp Thr Leu Thr  
1 5 10 15

ttc gcg gac ccc cga gtg gca aaa tgg cct tta ata gaa aac ccc ctt 96  
Phe Ala Asp Pro Arg Val Ala Lys Trp Pro Leu Ile Glu Asn Pro Leu  
20 25 30

cct aca att gct att gtg ttg ctg tac ctg gcg ttt gtt ctg tat att 144  
Pro Thr Ile Ala Ile Val Leu Leu Tyr Leu Ala Phe Val Leu Tyr Ile  
35 40 45

ggg ccg cgt ttt atg cga aaa aga gca cca gtt gac ttt ggt tta ttc 192  
Gly Pro Arg Phe Met Arg Lys Arg Ala Pro Val Asp Phe Gly Leu Phe  
50 55 60

ctc cct gga tat aac ttt gct ttg gtt gca tta aat tat tat atc ctg 240  
Leu Pro Gly Tyr Asn Phe Ala Leu Val Ala Leu Asn Tyr Tyr Ile Leu  
65 70 75 80

caa gaa gtg gtc act ggg agt tat ggg gct ggg tat gat ttg gtt tgc 288  
Gln Glu Val Val Thr Gly Ser Tyr Gly Ala Gly Tyr Asp Leu Val Cys  
85 90 95

aca cca ctt cga agt gat tcc tac gat ccc aat gaa atg aag gtt gca 336  
Thr Pro Leu Arg Ser Asp Ser Tyr Asp Pro Asn Glu Met Lys Val Ala



## 186

100	105	110	
aac gct gta tgg tgg tat tat gta tcc aag ata ata gag ttg ttt gat Asn Ala Val Trp Trp Tyr Tyr Val Ser Lys Ile Ile Glu Leu Phe Asp 115 120 125			384
act gtg ttg ttc act cta cgc aaa cga gac cga caa gta act ttc ctg Thr Val Leu Phe Thr Leu Arg Lys Arg Asp Arg Gln Val Thr Phe Leu 130 135 140			432
cat gtt tat cac cat tct acc atg ccc ctg ttg tgg tgg att ggg gca His Val Tyr His His Ser Thr Met Pro Leu Leu Trp Trp Ile Gly Ala 145 150 155 160			480
aag tgg gtg cct ggt ggg caa tca ttt gtt ggc atc ata ctg aac tcc Lys Trp Val Pro Gly Gly Gln Ser Phe Val Gly Ile Ile Leu Asn Ser 165 170 175			528
agt gtt cat gtt atc atg tat acg tac tat gga ttg tca gcc ttg ggg Ser Val His Val Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Leu Gly 180 185 190			576
cct cac atg cag aag ttt cta tgg tgg aag aaa tat atc aca atg ttg Pro His Met Gln Lys Phe Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Met Leu 195 200 205			624
caa ctg gtt caa ttt gtt ctt gcc atc tac cat act gct cga tca ttg Gln Leu Val Gln Phe Val Leu Ala Ile Tyr His Thr Ala Arg Ser Leu 210 215 220			672
tac gtt aaa tgt ccc tcg cct gtt tgg atg cac tgg gca ctt atc ttg Tyr Val Lys Cys Pro Ser Pro Val Trp Met His Trp Ala Leu Ile Leu 225 230 235 240			720
tac gct ttc tca ttc att ttg ctt ttc tca aac ttc tac atg cat gcc Tyr Ala Phe Ser Phe Ile Leu Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Met His Ala 245 250 255			768
tat atc aag aaa tca aga aaa ggg aaa gag aat ggc agt cga gga aaa Tyr Ile Lys Lys Ser Arg Lys Gly Lys Glu Asn Gly Ser Arg Gly Lys 260 265 270			816
ggt ggt gta agt aat gga aag gaa aag ctg cac gct aat ggt aaa acc Gly Gly Val Ser Asn Gly Lys Glu Lys Leu His Ala Asn Gly Lys Thr 275 280 285			864
gat taa Asp			870

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 289

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Ciona intestinalis

&lt;400&gt; 120

Met Asp Val Leu His Arg Phe Leu Gly Phe Tyr Glu Trp Thr Leu Thr
1 5 10 15

Phe Ala Asp Pro Arg Val Ala Lys Trp Pro Leu Ile Glu Asn Pro Leu
20 25 30

Pro Thr Ile Ala Ile Val Leu Leu Tyr Leu Ala Phe Val Leu Tyr Ile
35 40 45

Gly Pro Arg Phe Met Arg Lys Arg Ala Pro Val Asp Phe Gly Leu Phe  
 50 55 60

Leu Pro Gly Tyr Asn Phe Ala Leu Val Ala Leu Asn Tyr Tyr Ile Leu  
 65 70 75 80

Gln Glu Val Val Thr Gly Ser Tyr Gly Ala Gly Tyr Asp Leu Val Cys  
 85 90 95

Thr Pro Leu Arg Ser Asp Ser Tyr Asp Pro Asn Glu Met Lys Val Ala  
 100 105 110

Asn Ala Val Trp Trp Tyr Tyr Val Ser Lys Ile Ile Glu Leu Phe Asp  
 115 120 125

Thr Val Leu Phe Thr Leu Arg Lys Arg Asp Arg Gln Val Thr Phe Leu  
 130 135 140

His Val Tyr His His Ser Thr Met Pro Leu Leu Trp Trp Ile Gly Ala  
 145 150 155 160

Lys Trp Val Pro Gly Gly Gln Ser Phe Val Gly Ile Ile Leu Asn Ser  
 165 170 175

Ser Val His Val Ile Met Tyr Thr Tyr Tyr Gly Leu Ser Ala Leu Gly  
 180 185 190

Pro His Met Gln Lys Phe Leu Trp Trp Lys Lys Tyr Ile Thr Met Leu  
 195 200 205

Gln Leu Val Gln Phe Val Leu Ala Ile Tyr His Thr Ala Arg Ser Leu  
 210 215 220

Tyr Val Lys Cys Pro Ser Pro Val Trp Met His Trp Ala Leu Ile Leu  
 225 230 235 240

Tyr Ala Phe Ser Phe Ile Leu Leu Phe Ser Asn Phe Tyr Met His Ala  
 245 250 255

Tyr Ile Lys Lys Ser Arg Lys Gly Lys Glu Asn Gly Ser Arg Gly Lys  
 260 265 270

Gly Gly Val Ser Asn Gly Lys Glu Lys Leu His Ala Asn Gly Lys Thr  
 275 280 285

Asp

&lt;210&gt; 121

&lt;211&gt; 30

<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(30)  
<223>

<400> 121  
aggatccatg gccttcaagg agctcacatc

30

<210> 122  
<211> 35  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(35)  
<223>

<400> 122  
cctcgagtca atgggttttg cttttcaatg caccg

35

<210> 123  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(25)  
<223>

<400> 123  
taagcttatg gacgtacttc atcgt

25

<210> 124  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(26)  
<223>

<400> 124  
tcagatcttt aatcggtttt accatt

26

<210> 125  
<211> 34  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(34)  
<223>

<400> 125  
gcggccgcac catggccttc aaggagctca catc

34

<210> 126  
<211> 38  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(38)  
<223>

<400> 126  
gcggccgcct tcaatggttt ttgcttttca atgcaccg

38

<210> 127  
<211> 29  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(29)  
<223>

<400> 127  
gcggccgcac catggacgta cttcatcgt

29

<210> 128  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(27)  
<223>

<400> 128  
gcggccgctt taatcggttt taccatt

27

<210> 129  
<211> 60  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(60)  
<223>

<400> 129  
gtcgaccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccg gatctgc tggctatgaa

60

<210> 130  
<211> 60  
<212> DNA

&lt;213&gt; Primer

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (1)..(60)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 130

gtcgaccgcg ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

&lt;210&gt; 131

&lt;211&gt; 789

&lt;212&gt; DNA

<213> *Euglena gracilis*

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(789)

&lt;223&gt; Delta-5-Elongase

&lt;400&gt; 131

atg	ctg	ggg	gcc	atc	gcg	gac	gtc	gtg	ctc	cgg	ggg	ccc	gcc	gca	ttc	48
Met	Leu	Gly	Ala	Ile	Ala	Asp	Val	Val	Leu	Arg	Gly	Pro	Ala	Ala	Phe	
1			5						10					15		

cac	tgg	gac	cct	gac	acc	acc	ccg	ctc	gca	tgg	atc	gtc	agc	ccc	tgt	96
His	Trp	Asp	Pro	Ala	Thr	Thr	Pro	Leu	Ala	Ser	Ile	Val	Ser	Pro	Cys	
			20					25					30			

gtg	gcc	tcc	gtg	gcg	tac	ctg	ggg	gcc	atc	ggg	ctg	ctg	aag	cgc	cgc	144
Val	Ala	Ser	Val	Ala	Tyr	Leu	Gly	Ala	Ile	Gly	Leu	Leu	Lys	Arg	Arg	
		35				40						45				

act	gga	ccg	gag	gtc	cgc	tcc	aag	ccc	ttc	gag	ctg	cta	cac	aac	ggg	192
Thr	Gly	Pro	Glu	Val	Arg	Ser	Lys	Pro	Phe	Glu	Leu	Leu	His	Asn	Gly	
	50					55					60					

ctg	ctg	gtg	ggc	tgg	tcc	ctc	gtg	gtg	ctg	ctc	ggg	acg	ctg	tac	ggc	240
Leu	Leu	Val	Gly	Trp	Ser	Leu	Val	Val	Leu	Gly	Thr	Leu	Tyr	Gly		
65				70					75				80			

gcg	ttc	cag	cgc	gtg	cag	gag	gac	ggc	cgg	ggg	gtg	cag	gcc	ctc	ctg	288
Ala	Phe	Gln	Arg	Val	Gln	Glu	Asp	Gly	Arg	Gly	Val	Gln	Ala	Leu	Leu	
			85					90					95			

tgc	acc	cag	cgg	cca	cca	tct	cag	atc	tgg	gac	ggc	ccg	gtg	ggg	tac	336
Cys	Thr	Gln	Arg	Pro	Pro	Ser	Gln	Ile	Trp	Asp	Gly	Pro	Val	Gly	Tyr	
			100					105					110			

ttc	acg	tac	ctc	ttc	tac	ctc	gcg	aag	tac	tgg	gag	ctg	gcg	gac	act	384
Phe	Thr	Tyr	Leu	Phe	Tyr	Leu	Ala	Lys	Tyr	Trp	Glu	Leu	Ala	Asp	Thr	
		115					120					125				

gtc	atc	ctc	gcc	ctc	cgc	cag	aag	ccc	acc	atc	ccc	ctc	cac	gtc	tac	432
Val	Ile	Leu	Ala	Leu	Arg	Gln	Lys	Pro	Thr	Ile	Pro	Leu	His	Val	Tyr	
	130					135					140					

cat	cac	gcc	gtc	atg	ctg	ttc	atc	gtg	tgg	tgg	ttc	gcg	cac	ccc		480
His	His	Ala	Val	Met	Leu	Phe	Ile	Val	Trp	Ser	Trp	Phe	Ala	His	Pro	
145				150					155					160		

tgg	ctc	gag	ggg	agc	tgg	tgg	tgc	tcc	ctg	gtc	aac	tct	ttc	atc	cac	528
Trp	Leu	Glu	Gly	Ser	Trp	Trp	Cys	Ser	Leu	Val	Asn	Ser	Phe	Ile	His	
			165					170						175		

191

acg gtg atg tac tcg tac tac acc ctg acg gtg gtt ggc atc aac cct 576  
 Thr Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Ile Asn Pro  
 180 185 190  
 tgg tgg aag aag tgg atg acc acc atg cag atc atc cag ttc atc acg 624  
 Trp Trp Lys Lys Trp Met Thr Thr Met Gln Ile Ile Gln Phe Ile Thr  
 195 200 205  
 ggc tgc gtg tac gtc atg gcg ttc ttc ggc cta tat tat gcc ggg gcg 672  
 Gly Cys Val Tyr Val Met Ala Phe Phe Gly Leu Tyr Tyr Ala Gly Ala  
 210 215 220  
 ggc tgc acc tcc aac gtg tac act gcc tgg ttc tcg atg ggg gtc aac 720  
 Gly Cys Thr Ser Asn Val Tyr Thr Ala Trp Phe Ser Met Gly Val Asn  
 225 230 235 240  
 ctc agc ttt ctg tgg ctc ttc gct ctt ttc ttc cgc cgg tca tac agc 768  
 Leu Ser Phe Leu Trp Leu Phe Ala Leu Phe Phe Arg Arg Ser Tyr Ser  
 245 250 255  
 aaa cct agc cgg aag gag tag 789  
 Lys Pro Ser Arg Lys Glu  
 260

<210> 132  
 <211> 262  
 <212> PRT  
 <213> Euglena gracilis

&lt;400&gt; 132

Met Leu Gly Ala Ile Ala Asp Val Val Leu Arg Gly Pro Ala Ala Phe  
 1 5 10 15

His Trp Asp Pro Ala Thr Thr Pro Leu Ala Ser Ile Val Ser Pro Cys  
 20 25 30

Val Ala Ser Val Ala Tyr Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Lys Arg Arg  
 35 40 45

Thr Gly Pro Glu Val Arg Ser Lys Pro Phe Glu Leu Leu His Asn Gly  
 50 55 60

Leu Leu Val Gly Trp Ser Leu Val Val Leu Leu Gly Thr Leu Tyr Gly  
 65 70 75 80

Ala Phe Gln Arg Val Gln Glu Asp Gly Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu  
 85 90 95

Cys Thr Gln Arg Pro Pro Ser Gln Ile Trp Asp Gly Pro Val Gly Tyr  
 100 105 110

Phe Thr Tyr Leu Phe Tyr Leu Ala Lys Tyr Trp Glu Leu Ala Asp Thr  
 115 120 125

Val Ile Leu Ala Leu Arg Gln Lys Pro Thr Ile Pro Leu His Val Tyr  
 130 135 140

## 192

His His Ala Val Met Leu Phe Ile Val Trp Ser Trp Phe Ala His Pro  
145 150 155 160

Trp Leu Glu Gly Ser Trp Trp Cys Ser Leu Val Asn Ser Phe Ile His  
165 170 175

Thr Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Ile Asn Pro  
180 185 190

Trp Trp Lys Lys Trp Met Thr Thr Met Gln Ile Ile Gln Phe Ile Thr  
195 200 205

Gly Cys Val Tyr Val Met Ala Phe Phe Gly Leu Tyr Tyr Ala Gly Ala  
210 215 220

Gly Cys Thr Ser Asn Val Tyr Thr Ala Trp Phe Ser Met Gly Val Asn  
225 230 235 240

Leu Ser Phe Leu Trp Leu Phe Ala Leu Phe Phe Arg Arg Ser Tyr Ser  
245 250 255

Lys Pro Ser Arg Lys Glu  
260

<210> 133  
<211> 789  
<212> DNA  
<213> *Euglena gracilis*

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(789)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 133  
atg ctg ggg gcc atc gcg gac gtc gtg ctc cgg ggg ccc gcc gca ttc 48  
Met Leu Gly Ala Ile Ala Asp Val Val Leu Arg Gly Pro Ala Ala Phe  
1 5 10 15  
cac tgg gac cct gcc acc acc ccg ctc gca tcg atc gtc agc ccc tgt 96  
His Trp Asp Pro Ala Thr Thr Pro Leu Ala Ser Ile Val Ser Pro Cys  
20 25 30  
gtg gcc tcc gtg gcg tac ctg ggg gcc atc ggg ctg ctg aag cgc cgc 144  
Val Ala Ser Val Ala Tyr Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Lys Arg Arg  
35 40 45  
act gga ccg gag gtc cgc tcc aag ccc ttc gag ctg cta cac aac ggg 192  
Thr Gly Pro Glu Val Arg Ser Lys Pro Phe Glu Leu Leu His Asn Gly  
50 55 60  
ctg ctg gtg ggc tgg tcc ctc gtg gtg ctg ctc ggg acg ctg tac ggc 240  
Leu Leu Val Gly Trp Ser Leu Val Val Leu Leu Gly Thr Leu Tyr Gly  
65 70 75 80  
gcg tac cag cgc gtg cag gag gac ggc cgg ggg gtg cag gcc ctg ctg 288  
Ala Tyr Gln Arg Val Gln Glu Asp Gly Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu  
85 90 95

## 193

tgc acc cag cgg cca cca tct cag atc tgg gac ggc ccg gtg ggg tac 336  
 Cys Thr Gln Arg Pro Pro Ser Gln Ile Trp Asp Gly Pro Val Gly Tyr  
 100 105 110  
 ttc acg tac ctt ttc tac ctc gcg aag tac tgg gag ctg gtg gac act 384  
 Phe Thr Tyr Leu Phe Tyr Leu Ala Lys Tyr Trp Glu Leu Val Asp Thr  
 115 120 125  
 gtc atc ctc gcc ctc cgc cag aag ccc acc atc ccc ctc cac gtc tac 432  
 Val Ile Leu Ala Leu Arg Gln Lys Pro Thr Ile Pro Leu His Val Tyr  
 130 135 140  
 cat cac gcc gtc atg ctg ttc att gtg tgg tgg ttc gcg cac ccc 480  
 His His Ala Val Met Leu Phe Ile Val Trp Ser Trp Phe Ala His Pro  
 145 150 155 160  
 tgg ctc gag ggg agc tgg tgg tgc tcc ctg gtc aac tct ttc atc cac 528  
 Trp Leu Glu Gly Ser Trp Trp Cys Ser Leu Val Asn Ser Phe Ile His  
 165 170 175  
 acg gtg atg tac tgc tat tac acc ctg acg gtg gtt ggc atc aac cct 576  
 Thr Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Ile Asn Pro  
 180 185 190  
 tgg tgg aag aag tgg atg acc acc atg cag atc atc cag ttc atc acg 624  
 Trp Trp Lys Lys Trp Met Thr Thr Met Gln Ile Ile Gln Phe Ile Thr  
 195 200 205  
 ggc tgc gtg tac gtc acg gcg ttc ttc ggc cta tac tat gcc ggg gcg 672  
 Gly Cys Val Tyr Val Thr Ala Phe Phe Gly Leu Tyr Tyr Ala Gly Ala  
 210 215 220  
 ggc tgc acc tcc aac gtg tac act gcc tgg ttc tgc atg ggg gtc aac 720  
 Gly Cys Thr Ser Asn Val Tyr Thr Ala Trp Phe Ser Met Gly Val Asn  
 225 230 235 240  
 ctc agc ttt ctg tgg ctc ttc gct ctt ttc ttc cgc cgg tgc tac agc 768  
 Leu Ser Phe Leu Trp Leu Phe Ala Leu Phe Phe Arg Arg Ser Tyr Ser  
 245 250 255  
 aaa cct agc cgg aag gag tag 789  
 Lys Pro Ser Arg Lys Glu  
 260

<210> 134  
 <211> 262  
 <212> PRT  
 <213> *Euglena gracilis*

<400> 134

Met Leu Gly Ala Ile Ala Asp Val Val Leu Arg Gly Pro Ala Ala Phe  
 1 5 10 15

His Trp Asp Pro Ala Thr Thr Pro Leu Ala Ser Ile Val Ser Pro Cys  
 20 25 30

Val Ala Ser Val Ala Tyr Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Lys Arg Arg  
 35 40 45

Thr Gly Pro Glu Val Arg Ser Lys Pro Phe Glu Leu Leu His Asn Gly  
 50 55 60



194

Leu Leu Val Gly Trp Ser Leu Val Val Leu Leu Gly Thr Leu Tyr Gly  
65 70 75 80

Ala Tyr Gln Arg Val Gln Glu Asp Gly Arg Gly Val Gln Ala Leu Leu  
85 90 95

Cys Thr Gln Arg Pro Pro Ser Gln Ile Trp Asp Gly Pro Val Gly Tyr  
100 105 110

Phe Thr Tyr Leu Phe Tyr Leu Ala Lys Tyr Trp Glu Leu Val Asp Thr  
115 120 125

Val Ile Leu Ala Leu Arg Gln Lys Pro Thr Ile Pro Leu His Val Tyr  
130 135 140

His His Ala Val Met Leu Phe Ile Val Trp Ser Trp Phe Ala His Pro  
145 150 155 160

Trp Leu Glu Gly Ser Trp Trp Cys Ser Leu Val Asn Ser Phe Ile His  
165 170 175

Thr Val Met Tyr Ser Tyr Tyr Thr Leu Thr Val Val Gly Ile Asn Pro  
180 185 190

Trp Trp Lys Lys Trp Met Thr Thr Met Gln Ile Ile Gln Phe Ile Thr  
195 200 205

Gly Cys Val Tyr Val Thr Ala Phe Phe Gly Leu Tyr Tyr Ala Gly Ala  
210 215 220

Gly Cys Thr Ser Asn Val Tyr Thr Ala Trp Phe Ser Met Gly Val Asn  
225 230 235 240

Leu Ser Phe Leu Trp Leu Phe Ala Leu Phe Phe Arg Arg Ser Tyr Ser  
245 250 255

Lys Pro Ser Arg Lys Glu  
260

<210> 135  
<211> 897  
<212> DNA  
<213> Arabidopsis thaliana

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(897)  
<223> Delta-5-Elongase

<400> 135  
atg gca tct gtt tac tcc acc cta acc tac tgg ctc gtc cac cac ccc  
Met Ala Ser Val Tyr Ser Thr Leu Thr Tyr Trp Leu Val His His Pro  
1 5 10 15

195

tac att gcc aac ttc acg tgg acc gaa ggt gaa aca cta ggc tcc acc Tyr Ile Ala Asn Phe Thr Trp Thr Glu Gly Glu Thr Leu Gly Ser Thr 20 25 30	96
gtt ttc ttt gtc ttt gtc gtc gtc tcc ctt tac ctc tcc gcc aca ttc Val Phe Phe Val Phe Val Val Val Ser Leu Tyr Leu Ser Ala Thr Phe 35 40 45	144
ctc ctc cga tac acc gtc gat tca ctc ccc aca ctc ggt ccc cgc att Leu Leu Arg Tyr Thr Val Asp Ser Leu Pro Thr Leu Gly Pro Arg Ile 50 55 60	192
ctc aaa cca atc aca gcc gtt cac agc ctc att ctc ttc ctc ctc tcc Leu Lys Pro Ile Thr Ala Val His Ser Leu Ile Leu Phe Leu Leu Ser 65 70 75 80	240
tta acc atg gcc gtt ggt tgc act ctc tcc cta atc tct tcc tcg gac Leu Thr Met Ala Val Gly Cys Thr Leu Ser Leu Ile Ser Ser Ser Asp 85 90 95	288
ccg aag gcg cgt ctc ttc gac gcc gtt tgt ttc ccc ctc gac gtg aaa Pro Lys Ala Arg Leu Phe Asp Ala Val Cys Phe Pro Leu Asp Val Lys 100 105 110	336
cct aag gga ccg ctt ttc ttt tgg gct caa gtc ttt tac ctc tcg aag Pro Lys Gly Pro Leu Phe Phe Trp Ala Gln Val Phe Tyr Leu Ser Lys 115 120 125	384
atc ctt gag ttc gta gac aca ctt ctc atc ata ctc aac aaa tca atc Ile Leu Glu Phe Val Asp Thr Leu Leu Ile Ile Leu Asn Lys Ser Ile 130 135 140	432
caa cgg ctc tcg ttc ctc cac gtc tac cac cac gca acg gtt gtg att Gln Arg Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Thr Val Val Ile 145 150 155 160	480
ttg tgc tac ctc tgg tta cga aca cgt caa tcg atg ttt cct gtt ggg Leu Cys Tyr Leu Trp Leu Arg Thr Arg Gln Ser Met Phe Pro Val Gly 165 170 175	528
ctc gtg ttg aac tcg acg gtc cat gtg att atg tac ggg tac tat ttc Leu Val Leu Asn Ser Thr Val His Val Ile Met Tyr Gly Tyr Tyr Phe 180 185 190	576
ctc tgc gct atc gga tcg agg ccc aag tgg aag aag ttg gtg acg aat Leu Cys Ala Ile Gly Ser Arg Pro Lys Trp Lys Lys Leu Val Thr Asn 195 200 205	624
ttt caa atg gtt cag ttt gct ttc ggc atg ggg tta gga gcc gct tgg Phe Gln Met Val Gln Phe Ala Phe Gly Met Gly Leu Gly Ala Ala Trp 210 215 220	672
atg ctc cca gag cat tat ttc ggg tcg ggt tgc gcc ggg att tgg aca Met Leu Pro Glu His Tyr Phe Gly Ser Gly Cys Ala Gly Ile Trp Thr 225 230 235 240	720
gtt tat ttc aat ggt gtg ttt act gct tct cta ttg gct ctc ttc tac Val Tyr Phe Asn Gly Val Phe Thr Ala Ser Leu Leu Ala Leu Phe Tyr 245 250 255	768
aac ttc cac tcc aag aac tat gag aag act aca acg tcg cct ttg tat Asn Phe His Ser Lys Asn Tyr Glu Lys Thr Thr Thr Ser Pro Leu Tyr 260 265 270	816
aag atc gaa tcc ttt ata ttt att cac gga gag agg tgg gca aat aaa Lys Ile Glu Ser Phe Ile Phe Ile His Gly Glu Arg Trp Ala Asn Lys 275 280 285	864

196

gcg att aca tta ttt tcc aag aaa aac gat taa  
 Ala Ile Thr Leu Phe Ser Lys Lys Asn Asp  
 290 295

897

<210> 136  
 <211> 298  
 <212> PRT  
 <213> Arabidopsis thaliana

&lt;400&gt; 136

Met Ala Ser Val Tyr Ser Thr Leu Thr Tyr Trp Leu Val His His Pro  
 1 5 10 15

Tyr Ile Ala Asn Phe Thr Trp Thr Glu Gly Glu Thr Leu Gly Ser Thr  
 20 25 30

Val Phe Phe Val Phe Val Val Val Ser Leu Tyr Leu Ser Ala Thr Phe  
 35 40 45

Leu Leu Arg Tyr Thr Val Asp Ser Leu Pro Thr Leu Gly Pro Arg Ile  
 50 55 60

Leu Lys Pro Ile Thr Ala Val His Ser Leu Ile Leu Phe Leu Leu Ser  
 65 70 75 80

Leu Thr Met Ala Val Gly Cys Thr Leu Ser Leu Ile Ser Ser Ser Asp  
 85 90 95

Pro Lys Ala Arg Leu Phe Asp Ala Val Cys Phe Pro Leu Asp Val Lys  
 100 105 110

Pro Lys Gly Pro Leu Phe Phe Trp Ala Gln Val Phe Tyr Leu Ser Lys  
 115 120 125

Ile Leu Glu Phe Val Asp Thr Leu Leu Ile Ile Leu Asn Lys Ser Ile  
 130 135 140

Gln Arg Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Thr Val Val Ile  
 145 150 155 160

Leu Cys Tyr Leu Trp Leu Arg Thr Arg Gln Ser Met Phe Pro Val Gly  
 165 170 175

Leu Val Leu Asn Ser Thr Val His Val Ile Met Tyr Gly Tyr Tyr Phe  
 180 185 190

Leu Cys Ala Ile Gly Ser Arg Pro Lys Trp Lys Lys Leu Val Thr Asn  
 195 200 205

Phe Gln Met Val Gln Phe Ala Phe Gly Met Gly Leu Gly Ala Ala Trp  
 210 215 220

197

Met Leu Pro Glu His Tyr Phe Gly Ser Gly Cys Ala Gly Ile Trp Thr  
 225 230 235 240

Val Tyr Phe Asn Gly Val Phe Thr Ala Ser Leu Leu Ala Leu Phe Tyr  
 245 250 255

Asn Phe His Ser Lys Asn Tyr Glu Lys Thr Thr Thr Ser Pro Leu Tyr  
 260 265 270

Lys Ile Glu Ser Phe Ile Phe Ile His Gly Glu Arg Trp Ala Asn Lys  
 275 280 285

Ala Ile Thr Leu Phe Ser Lys Lys Asn Asp  
 290 295

<210> 137  
 <211> 837  
 <212> DNA  
 <213> Arabidopsis thaliana

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(837)  
 <223> Delta-5-Elongase

<400> 137  
 atg gca tca att tac tcc tct tta acc tac tgg ctc gtt aac cac ccc 48  
 Met Ala Ser Ile Tyr Ser Ser Leu Thr Tyr Trp Leu Val Asn His Pro  
 1 5 10 15  
 tac atc tcc aat ttt act tgg atc gaa ggt gaa acc cta ggc tcc acc 96  
 Tyr Ile Ser Asn Phe Thr Trp Ile Glu Gly Glu Thr Leu Gly Ser Thr  
 20 25 30  
 gtc ttt ttc gta tcc gtc gta gtc tcc gtt tac ctc tcc gcc acg ttc 144  
 Val Phe Phe Val Ser Val Val Val Ser Val Tyr Leu Ser Ala Thr Phe  
 35 40 45  
 ctc ctc cga tcc gcc atc gat tca ctc cca tca ctc agt cca cgt atc 192  
 Leu Leu Arg Ser Ala Ile Asp Ser Leu Pro Ser Leu Ser Pro Arg Ile  
 50 55 60  
 ctc aaa ccg atc aca gcc gtc cac agc cta atc ctc tgt ctc ctc tcc 240  
 Leu Lys Pro Ile Thr Ala Val His Ser Leu Ile Leu Cys Leu Leu Ser  
 65 70 75 80  
 tta gtc atg gcc gtc ggt tgc act ctc tca ata acc tca tct cac gcg 288  
 Leu Val Met Ala Val Gly Cys Thr Leu Ser Ile Thr Ser Ser His Ala  
 85 90 95  
 tct tca gat ccg atg gcg cgt ttc ctt cac gcg att tgc ttt ccc gtc 336  
 Ser Ser Asp Pro Met Ala Arg Phe Leu His Ala Ile Cys Phe Pro Val  
 100 105 110  
 gac gtt aaa cct aac gga ccg ctt ttc ttc tgg gct caa gtc ttc tac 384  
 Asp Val Lys Pro Asn Gly Pro Leu Phe Phe Trp Ala Gln Val Phe Tyr  
 115 120 125  
 ctc tcg aag atc ctc gag ttc gga gac acg atc ctc atc ata ctc ggc 432  
 Leu Ser Lys Ile Leu Glu Phe Gly Asp Thr Ile Leu Ile Ile Leu Gly  
 130 135 140

## 198

aaa tca atc caa cgg cta tcc ttc ctc cac gtg tac cac cac gcg acg 480  
 Lys Ser Ile Gln Arg Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Thr  
 145 150 155 160

gtt gtg gtc atg tgt tat ctc tgg ctc cga act cgc caa tcg atg ttt 528  
 Val Val Val Met Cys Tyr Leu Trp Leu Arg Thr Arg Gln Ser Met Phe  
 165 170 175

cgg att gcg ctc gtg acg aat tcg acg gta cac gtc atc atg tac ggt 576  
 Pro Ile Ala Leu Val Thr Asn Ser Thr Val His Val Ile Met Tyr Gly  
 180 185 190

tac tac ttc ctc tgc gcc gtt gga tcg agg ccc aag tgg aag aga ttg 624  
 Tyr Tyr Phe Leu Cys Ala Val Gly Ser Arg Pro Lys Trp Lys Arg Leu  
 195 200 205

gtg acg gat tgt cag att gtt cag ttt gtt ttc agt ttc ggg tta tcc 672  
 Val Thr Asp Cys Gln Ile Val Gln Phe Val Phe Ser Phe Gly Leu Ser  
 210 215 220

ggt tgg atg ctc cga gag cac tta ttc ggg tcg ggt tgc acc ggg att 720  
 Gly Trp Met Leu Arg Glu His Leu Phe Gly Ser Gly Cys Thr Gly Ile  
 225 230 235 240

tgg gga tgg tgt ttc aac gct gca ttt aat gct tct ctt ttg gct ctc 768  
 Trp Gly Trp Cys Phe Asn Ala Ala Phe Asn Ala Ser Leu Leu Ala Leu  
 245 250 255

ttt tcc aac ttc cat tca aag aat tat gtc aag aag cca acg aga gag 816  
 Phe Ser Asn Phe His Ser Lys Asn Tyr Val Lys Lys Pro Thr Arg Glu  
 260 265 270

gat ggc aaa aaa agc gat tag 837  
 Asp Gly Lys Lys Ser Asp  
 275

<210> 138  
 <211> 278  
 <212> PRT  
 <213> Arabidopsis thaliana

<400> 138

Met Ala Ser Ile Tyr Ser Ser Leu Thr Tyr Trp Leu Val Asn His Pro  
 1 5 10 15

Tyr Ile Ser Asn Phe Thr Trp Ile Glu Gly Glu Thr Leu Gly Ser Thr  
 20 25 30

Val Phe Phe Val Ser Val Val Val Ser Val Tyr Leu Ser Ala Thr Phe  
 35 40 45

Leu Leu Arg Ser Ala Ile Asp Ser Leu Pro Ser Leu Ser Pro Arg Ile  
 50 55 60

Leu Lys Pro Ile Thr Ala Val His Ser Leu Ile Leu Cys Leu Leu Ser  
 65 70 75 80

Leu Val Met Ala Val Gly Cys Thr Leu Ser Ile Thr Ser Ser His Ala  
 85 90 95

199

Ser Ser Asp Pro Met Ala Arg Phe Leu His Ala Ile Cys Phe Pro Val  
 100 105 110  
 Asp Val Lys Pro Asn Gly Pro Leu Phe Phe Trp Ala Gln Val Phe Tyr  
 115 120 125  
 Leu Ser Lys Ile Leu Glu Phe Gly Asp Thr Ile Leu Ile Ile Leu Gly  
 130 135 140  
 Lys Ser Ile Gln Arg Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ala Thr  
 145 150 155 160  
 Val Val Val Met Cys Tyr Leu Trp Leu Arg Thr Arg Gln Ser Met Phe  
 165 170 175  
 Pro Ile Ala Leu Val Thr Asn Ser Thr Val His Val Ile Met Tyr Gly  
 180 185 190  
 Tyr Tyr Phe Leu Cys Ala Val Gly Ser Arg Pro Lys Trp Lys Arg Leu  
 195 200 205  
 Val Thr Asp Cys Gln Ile Val Gln Phe Val Phe Ser Phe Gly Leu Ser  
 210 215 220  
 Gly Trp Met Leu Arg Glu His Leu Phe Gly Ser Gly Cys Thr Gly Ile  
 225 230 235 240  
 Trp Gly Trp Cys Phe Asn Ala Ala Phe Asn Ala Ser Leu Leu Ala Leu  
 245 250 255  
 Phe Ser Asn Phe His Ser Lys Asn Tyr Val Lys Lys Pro Thr Arg Glu  
 260 265 270  
 Asp Gly Lys Lys Ser Asp  
 275

<210> 139  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Konsensus

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(6)  
 <223> Xaa in der Position 3 und 4 in der Sequenz hat die in Tabelle A w  
 iedergegebene Bedeutung.

<400> 139

Leu His Xaa Xaa His His  
 1 5

<210> 140  
 <211> 8

<212> PRT  
<213> Konsensus

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(8)  
<223> Xaa an der Position 2, 3, 5 und 6 in der Sequenz hat die in Tabelle A wiedergegebene Bedeutung.

<400> 140

Thr Xaa Xaa Gln Xaa Xaa Gln Phe  
1 5

<210> 141  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Konsensus

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(6)  
<223> Xaa an Position 3 in der Sequenz hat die in Tabelle A wiedergegebene Bedeutung.

<400> 141

Asp Thr Xaa Phe Met Val  
1 5

<210> 142  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Konsensus

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(8)  
<223> Xaa an Position 5 und 6 in der Sequenz hat die in Tabelle A wiedergegebene Bedeutung.

<400> 142

Thr Gln Ala Gln Xaa Xaa Gln Phe  
1 5

<210> 143  
<211> 60  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(60)  
<223>

<400> 143  
gtcgaccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa 60

<210> 144

<211> 60  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(60)  
<223>

<400> 144  
gtcgacccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccgcatctgc tggctatgaa 60

<210> 145  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(36)  
<223>

<400> 145  
ggtaccacat aatgtgcgtg gagacggaaa ataacg 36

<210> 146  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(33)  
<223>

<400> 146  
ctcgagttac gccgtctttc cggagtgttg gcc 33

<210> 147  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(24)  
<223>

<400> 147  
gcggccgctt acgtggactt ggtc 24

<210> 148  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(24)  
<223>



<400> 148  
gcggccgcat ggcgacgaag gagg

24

<210> 149  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(25)  
<223>

<400> 149  
taagcttaca tggcgacgaa ggagg

25

<210> 150  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(24)  
<223>

<400> 150  
tggatccact tacgtggact tggc

24

<210> 151  
<211> 60  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(60)  
<223>

<400> 151  
gtcgaccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa

60

<210> 152  
<211> 31  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(31)  
<223>

<400> 152  
gcggccgcac catgtgctca ccaccgccgt c

31

<210> 153  
<211> 26

<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(26)  
<223>

<400> 153  
gcggccgcct acatggcacc agtaac

26

<210> 154  
<211> 31  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(31)  
<223>

<400> 154  
gcggccgcac catgtgctca tcaccgccgt c

31

<210> 155  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(26)  
<223>

<400> 155  
gcggccgcct acatggcacc agtaac

26

<210> 156  
<211> 31  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(31)  
<223>

<400> 156  
gcggccgcac catggacgcc tacaacgctg c

31

<210> 157  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(27)  
<223>

<400> 157  
gcggccgcct aagcactctt cttcttt

27

<210> 158  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(23)  
<223>

<400> 158  
accatgtgct caccaccgcc gtc

23

<210> 159  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(18)  
<223>

<400> 159  
ctacatggca ccagtaac

18

<210> 160  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(23)  
<223>

<400> 160  
accatgtgct catcaccgcc gtc

23

<210> 161  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(18)  
<223>

<400> 161  
ctacatggca ccagtaac

18

<210> 162  
<211> 23  
<212> DNA

<213> Primer

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(23)

<223>

<400> 162

accatggacg cctacaacgc tgc

23

<210> 163

<211> 19

<212> DNA

<213> Primer

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(19)

<223>

<400> 163

ctaagcactc ttcttcttt

19

<210> 164

<211> 60

<212> DNA

<213> Primer

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(60)

<223>

<400> 164

gtcgaccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa

60

<210> 165

<211> 60

<212> DNA

<213> Primer

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(60)

<223>

<400> 165

gtcgaccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccggatctgc tggctatgaa

60

<210> 166

<211> 29

<212> DNA

<213> Primer

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(29)

<223>

<400> 166  
gcggccgcat aatgacgagc aacatgagc

29

<210> 167  
<211> 29  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(29)  
<223>

<400> 167  
gcggccgctt aggccgactt ggccttggg

29

<210> 168  
<211> 34  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(34)  
<223>

<400> 168  
gcggccgcac catggacgtc gtcgagcagc aatg

34

<210> 169  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(36)  
<223>

<400> 169  
gcggccgctt agatggtctt ctgcttcttg ggcgcc

36

<210> 170  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(23)  
<223>

<400> 170  
gacataatga cgagcaacat gag

23

<210> 171  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(25)  
<223>

<400> 171  
cggcttaggc cgacttg gcc ttggg

25

<210> 172  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(30)  
<223>

<400> 172  
agacataatg gacgtcgtcg agcagcaatg

30

<210> 173  
<211> 28  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(28)  
<223>

<400> 173  
ttagatgggc ttctgcttct tgggcgcc

28

<210> 174  
<211> 60  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(60)  
<223>

<400> 174  
gtcgaccgc ggactagtgg gccctctaga cccgggggat ccgatctgc tggctatgaa

60

<210> 175  
<211> 29  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(29)  
<223>

<400> 175

gcggccgcat aatggcttca acatggcaa

29

<210> 176  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(32)  
<223>

<400> 176  
gcggccgctt atgtcttctt gctcttcctg tt

32

<210> 177  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(26)  
<223>

<400> 177  
gcggccgcat aatggagact tttaat

26

<210> 178  
<211> 28  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(28)  
<223>

<400> 178  
gcggccgctc agtccccctt cactttcc

28

<210> 179  
<211> 29  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(29)  
<223>

<400> 179  
aagcttacat aatggcttca acatggcaa

29

<210> 180  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(30)  
 <223>

<400> 180  
 ggatccttat gtcttcttgc tcttcctggt

30

<210> 181  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> Primer

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(26)  
 <223>

<400> 181  
 aagcttacat aatggagact ttttaat

26

<210> 182  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Primer

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(27)  
 <223>

<400> 182  
 ggatccttca gtccccctc actttcc

27

<210> 183  
 <211> 993  
 <212> DNA  
 <213> Phaeodactylum tricornutum

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (103)..(939)  
 <223> Delta-6-Elongase

<400> 183  
 ggtcttttgt ggtagctatc gtcacacac gcaggctggt gctcactatc gtgatccgta

60

tattgaccgt gcacttggtgt aaaacagaga tatttcaaga gt atg atg gta cct  
 Met Met Val Pro  
 1

114

tca agt tat gac gag tat atc gtc atg gtc aac gac ctt ggc gac tct  
 Ser Ser Tyr Asp Glu Tyr Ile Val Met Val Asn Asp Leu Gly Asp Ser  
 5 10 15 20

162

att ctg agc tgg gcc gac cct gat cac tat cgt gga cat acc gag gga  
 Ile Leu Ser Trp Ala Asp Pro Asp His Tyr Arg Gly His Thr Glu Gly  
 25 30 35

210

tgg gag ttc act gac ttt tct gct gct ttt agc att gcc gtc gcg tac  
 Trp Glu Phe Thr Asp Phe Ser Ala Ala Phe Ser Ile Ala Val Ala Tyr

258



## 210

40	45	50	
ctc ctg ttt gtc ttt gtt gga tct ctc att atg agt atg gga gtc ccc Leu Leu Phe Val Phe Val Gly Ser Leu Ile Met Ser Met Gly Val Pro 55 60 65			306
gca att gac cct tat ccg ctc aag ttt gtc tac aat gtt tca cag att Ala Ile Asp Pro Tyr Pro Leu Lys Phe Val Tyr Asn Val Ser Gln Ile 70 75 80			354
atg ctt tgt gct tac atg acc att gaa gcc agt ctt cta gct tat cgt Met Leu Cys Ala Tyr Met Thr Ile Glu Ala Ser Leu Leu Ala Tyr Arg 85 90 95 100			402
aac ggc tac aca ttc tgg cct tgc aac gat tgg gac ttt gaa aag ccg Asn Gly Tyr Thr Phe Trp Pro Cys Asn Asp Trp Asp Phe Glu Lys Pro 105 110 115			450
cct atc gct aag ctc ctc tgg ctc ttt tac gtt tcc aaa att tgg gat Pro Ile Ala Lys Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Val Ser Lys Ile Trp Asp 120 125 130			498
ttt tgg gac acc atc ttt att gtt ctc ggg aag aag tgg cgt caa ctt Phe Trp Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys Trp Arg Gln Leu 135 140 145			546
tcc ttc ctg cac gtc tac cat cac acc acc atc ttt ctc ttc tac tgg Ser Phe Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe Leu Phe Tyr Trp 150 155 160			594
ttg aat gca cat gta aac ttt gat ggt gat att ttc ctc acc atc gtc Leu Asn Ala His Val Asn Phe Asp Gly Asp Ile Phe Leu Thr Ile Val 165 170 175 180			642
ttg aac ggt ttc atc cac acc gtc atg tac acg tac tac ttc att tgc Leu Asn Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr Tyr Phe Ile Cys 185 190 195			690
atg cac acc aag gtc cca gag acc ggc aaa tcc ttg ccc att tgg tgg Met His Thr Lys Val Pro Glu Thr Gly Lys Ser Leu Pro Ile Trp Trp 200 205 210			738
aaa tct agt ttg aca agc atg cag ctg gtg cag ttc atc acg atg atg Lys Ser Ser Leu Thr Ser Met Gln Leu Val Gln Phe Ile Thr Met Met 215 220 225			786
acg cag gct atc atg atc ttg tac aag ggc tgt gct gct ccc cat agc Thr Gln Ala Ile Met Ile Leu Tyr Lys Gly Cys Ala Ala Pro His Ser 230 235 240			834
cgg gtg gtg aca tcg tac ttg gtt tac att ttg tcg ctc ttt att ttg Arg Val Val Thr Ser Tyr Leu Val Tyr Ile Leu Ser Leu Phe Ile Leu 245 250 255 260			882
ttc gcc cag ttc ttt gtc agc tca tac ctc aag ccg aag aag aag aag Phe Ala Gln Phe Phe Val Ser Ser Tyr Leu Lys Pro Lys Lys Lys Lys 265 270 275			930
aca gct taa gcgaaatttg ggtctacggtt aaaacaatta cgttacaaaa Thr Ala			979
aaaaaaaaaaaa aaaa			993

<210> 184  
<211> 278  
<212> PRT

WO 2005/012316

211

&lt;213&gt; Phaeodactylum tricornutum

&lt;400&gt; 184

```

Met Met Val Pro Ser Ser Tyr Asp Glu Tyr Ile Val Met Val Asn Asp
1          5          10          15

Leu Gly Asp Ser Ile Leu Ser Trp Ala Asp Pro Asp His Tyr Arg Gly
20          25          30

His Thr Glu Gly Trp Glu Phe Thr Asp Phe Ser Ala Ala Phe Ser Ile
35          40          45

Ala Val Ala Tyr Leu Leu Phe Val Phe Val Gly Ser Leu Ile Met Ser
50          55          60

Met Gly Val Pro Ala Ile Asp Pro Tyr Pro Leu Lys Phe Val Tyr Asn
65          70          75          80

Val Ser Gln Ile Met Leu Cys Ala Tyr Met Thr Ile Glu Ala Ser Leu
85          90          95

Leu Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Phe Trp Pro Cys Asn Asp Trp Asp
100         105         110

Phe Glu Lys Pro Pro Ile Ala Lys Leu Leu Trp Leu Phe Tyr Val Ser
115         120         125

Lys Ile Trp Asp Phe Trp Asp Thr Ile Phe Ile Val Leu Gly Lys Lys
130         135         140

Trp Arg Gln Leu Ser Phe Leu His Val Tyr His His Thr Thr Ile Phe
145         150         155         160

Leu Phe Tyr Trp Leu Asn Ala His Val Asn Phe Asp Gly Asp Ile Phe
165         170         175

Leu Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Ile His Thr Val Met Tyr Thr Tyr
180         185         190

Tyr Phe Ile Cys Met His Thr Lys Val Pro Glu Thr Gly Lys Ser Leu
195         200         205

Pro Ile Trp Trp Lys Ser Ser Leu Thr Ser Met Gln Leu Val Gln Phe
210         215         220

Ile Thr Met Met Thr Gln Ala Ile Met Ile Leu Tyr Lys Gly Cys Ala
225         230         235         240

Ala Pro His Ser Arg Val Val Thr Ser Tyr Leu Val Tyr Ile Leu Ser
245         250         255

```

## 212

Leu Phe Ile Leu Phe Ala Gln Phe Phe Val Ser Ser Tyr Leu Lys Pro  
 260 265 270

Lys Lys Lys Lys Thr Ala  
 275

<210> 185

<211> 20

<212> DNA

<213> Primer

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(20)

<223> N in den Positionen 3 und 18 bedeutet C oder T.

<400> 185

aanctuctut ggctuttnta

20

<210> 186

<211> 23

<212> DNA

<213> Primer

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(23)

<223> N in den Positionen 3 und 15 bedeutet C oder T. N in den Positionen 9, 12 und 21 bedeutet A oder G.

<400> 186

gantguacna anaantgugc naa

23

<210> 187

<211> 446

<212> DNA

<213> PCR-Fragment

<220>

<221> misc\_feature

<222> (1)..(446)

<223> PCR-Fragment

<400> 187

aagctcctct ggctctttta cgtttccaaa atttgggatt tttgggacac catctttatt 60

gttctcgga agaagtggcg tcaactttcc ttctgcacg tctaccatca caccaccatc 120

ttctcttct actggttgaa tgcacatgta aactttgatg gtgatatttt cctcaccatc 180

gtcttgaacg gtttcatcca caccgtcatg tacacgtact acttcatttg catgcacacc 240

aagggtcccag agaccggcaa atccttgccc atttgggtgga aatctagttt gacaagcatg 300

cagctgggtgc agttcatcac gatgatgacg caggctatca tgatcttgta caagggctgt 360

gctgctcccc atagccgggt ggtgacatcg tacttggttt acattttgtc gctctttatt 420

ttgttcgccc agttctttgt cagctc 446

WO 2005/012316

213

<210> 188  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(30)  
<223>

30

<400> 188  
gcggccgcac ataatgatgg taccttcaag

<210> 189  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(22)  
<223>

22

<400> 189  
gaagacagct taatagacta gt

<210> 190  
<211> 31  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(31)  
<223>

31

<400> 190  
gcggccgcac catgatggta ccttcaagtt a

<210> 191  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Primer

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (1)..(24)  
<223>

24

<400> 191  
gaagacagct taataggcgg ccgc

<210> 192  
<211> 859  
<212> DNA  
<213> PCR-Produkt

<400> 192  
gcggccgcac ataatgatgg taccttcaag ttatgacgag tatatcgtaa tggtaacga

60

214

ccttggcgac tctattctga gctggggccga ccctgatcac tatcgtggac ataccgaggg	120
atgggagttc actgactttt ctgctgcttt tagcattgcc gtcgcgtacc tcctgtttgt	180
ctttgttgga tctctcatta tgagtatggg agtccccgca attgaccctt atccgctcaa	240
gtttgtctac aatgtttcac agattatgct ttgtgcttac atgaccattg aagccagtct	300
tctagcttat cgtaacggct acacattctg gccttgcaac gattgggact ttgaaaagcc	360
gcctatcgct aagctcctct ggctctttta cgtttccaaa atttgggatt tttgggacac	420
catctttatt gttctcgga agaagtggcg tcaactttcc ttctgcacg tctaccatca	480
caccaccatc tttctcttct actggttgaa tgcacatgta aactttgatg gtgatatttt	540
cctcaccatc gtcttgaacg gtttcatcca caccgtcatg tacacgtact acttcatttg	600
catgcacacc aaggctcccag agaccggcaa atccttgccc atttggtgga aatctagttt	660
gacaagcatg cagctggtgc agttcatcac gatgatgacg caggctatca tgatcttgta	720
caagggctgt gctgctcccc atagccgggt ggtgacatcg tacttggttt acattttgtc	780
gctctttatt ttgttcgccc agttctttgt cagctcatat ctcaagccga agaagaagaa	840
gacagcttaa tagactagt	859

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**